

TENT COOPERATION TREATY

PCT

NOTIFICATION OF ELECTION

(PCT Rule 61.2)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

Assistant Commissioner for Patents
United States Patent and Trademark
Office
Box PCT
Washington, D.C.20231
ÉTATS-UNIS D'AMÉRIQUE

in its capacity as elected Office

Date of mailing (day/month/year) 31 August 1999 (31.08.99)	
International application No. PCT/EP98/08370	Applicant's or agent's file reference 14581/PCT Ri
International filing date (day/month/year) 21 December 1998 (21.12.98)	Priority date (day/month/year) 28 December 1997 (28.12.97)
Applicant FUHR, Günter et al	

1. The designated Office is hereby notified of its election made:

☒ in the demand filed with the International Preliminary Examining Authority on:

09 July 1999 (09.07.99)

☐ in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:2. The election ☒ was☐ was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland Facsimile No.: (41-22) 740.14.35	Authorized officer F. Baechler Telephone No.: (41-22) 338.83.38
---	---

THIS PAGE BLANK (USPTO)

PCTWELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
Internationales BüroINTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

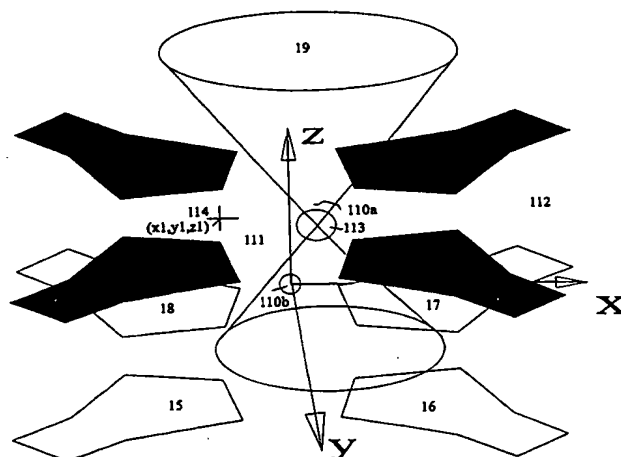
(51) Internationale Patentklassifikation ⁶ : H05H 3/04		A1	(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 99/34653 (43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 8. Juli 1999 (08.07.99)
(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP98/08370 (22) Internationales Anmeldedatum: 21. Dezember 1998 (21.12.98) (30) Prioritätsdaten: 197 57 785.7 28. Dezember 1997 (28.12.97) DE (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): EVOTEC BIOSYSTEMS AG [DE/DE]; Schnackenburgallee 114, D-22525 Hamburg (DE). (72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): FUHR, Günter [DE/DE]; Kavalierstrasse 15, D-13187 Berlin (DE). SCHNELLE, Thomas [DE/DE]; Koppenstrasse 65, D-10243 Berlin (DE). MÜLLER, Torsten [DE/DE]; Hartriegelstrasse 100, D-12439 Berlin (DE). HITZLER, Hermine [DE/DE]; Reilerstrasse 6, D-12681 Berlin (DE). GREULICH, Karl-Otto [DE/DE]; Plöck 27, D-69117 Heidelberg (DE). MONAJEMBASHI, Shamci [IR/DE]; Fritz-Frey-Strasse 2, D-69121 Heidelberg (DE). (74) Anwalt: HERTZ, Oliver; v. Bezold & Sozien, Briener Strasse 52, D-80333 München (DE).			(81) Bestimmungsstaaten: JP, US, europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE). Veröffentlicht <i>Mit internationalem Recherchenbericht. Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche zugelassenen Frist; Veröffentlichung wird wiederholt falls Änderungen eintreffen.</i>

(54) Title: METHOD AND DEVICE FOR MEASURING, CALIBRATING AND USING LASER TWEEZERS**(54) Bezeichnung:** VERFAHREN UND VORRICHTUNG ZUR VERMESSUNG, KALIBRIERUNG UND VERWENDUNG VON LASER-PINZETTEN**(57) Abstract**

The invention relates to a method for determining or exerting optically induced forces on at least one particle in the optical focus of an optical cage, comprising the following steps: a) the focus is positioned in a micro electrode arrangement with a three dimensional electric field which has field gradients that form an electrical capture range and is placed at a distance from said capture range, and b) the amplitude of the electrical field, the light output of the light flow that forms the optical cage, and/or the distance separating the capture range from the focus are varied in order to detect which of the varied field properties result in transitional movement of the particle to the capture range or vice versa or to provide an at least temporary arrangement of the particle in the capture range.

(57) Zusammenfassung

Zur Bestimmung oder Ausübung optisch induzierter Kräfte auf mindestens ein Teilchen im Fokus eines optischen Käfigs mit den Schritten erfolgt a) ein Positionieren des Fokus in einer Mikroelektrodenanordnung mit einem dreidimensionalen elektrischen Feld, das einen elektrischen Fangbereich bildende Feldgradienten aufweist, mit Abstand vom Fangbereich, und b) eine Variation der Amplitude des elektrischen Feldes, der Lichtleistung der den optischen Käfig bildenden Lichtstrahlung und/oder des Abstands des Fangbereiches vom Fokus, um zu erfassen, unter welchen dieser variierten Feldeigenschaften eine Übergangsbewegung des Teilchens vom Fokus zum Fangbereich oder umgekehrt erfolgt oder um eine zumindest zeitweilige Anordnung des Teilchens im Fangbereich bereitzustellen.



LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AL	Albanien	ES	Spanien	LS	Lesotho	SI	Slowenien
AM	Armenien	FI	Finnland	LT	Litauen	SK	Slowakei
AT	Österreich	FR	Frankreich	LU	Luxemburg	SN	Senegal
AU	Australien	GA	Gabun	LV	Lettland	SZ	Swasiland
AZ	Aserbaidshan	GB	Vereinigtes Königreich	MC	Monaco	TD	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	GE	Georgien	MD	Republik Moldau	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagaskar	TJ	Tadschikistan
BE	Belgien	GN	Guinea	MK	Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland	ML	Mali	TR	Türkei
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	MN	Mongolei	TT	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	IE	Irland	MR	Mauretanien	UA	Ukraine
BR	Brasilien	IL	Israel	MW	Malawi	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Island	MX	Mexiko	US	Vereinigte Staaten von Amerika
CA	Kanada	IT	Italien	NE	Niger	UZ	Usbekistan
CF	Zentralafrikanische Republik	JP	Japan	NL	Niederlande	VN	Vietnam
CG	Kongo	KE	Kenia	NO	Norwegen	YU	Jugoslawien
CH	Schweiz	KG	Kirgisistan	NZ	Neuseeland	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	PL	Polen		
CM	Kamerun	KR	Republik Korea	PT	Portugal		
CN	China	KZ	Kasachstan	RO	Rumänien		
CU	Kuba	LC	St. Lucia	RU	Russische Föderation		
CZ	Tschechische Republik	LI	Liechtenstein	SD	Sudan		
DE	Deutschland	LK	Sri Lanka	SE	Schweden		
DK	Dänemark	LR	Liberia	SG	Singapur		
EE	Estland						

Verfahren und Vorrichtung zur Vermessung, Kalibrierung und Verwendung von Laser-Pinzetten

Die Erfindung betrifft Verfahren und Vorrichtungen zur Vermessung und Kalibrierung optischer Feldfallen und der Bestimmung von optisch induzierten Kräften in allen drei Raumrichtungen, die auf mikrometergroße Teilchen ausgeübt werden, und zur Verwendung optischer Feldfallen.

Optische Feldfallen, auch "optical tweezers", "Laser-Pinzetten" oder "optical traps" genannt, werden seit etwa zwei Jahrzehnten auf den Gebieten der Biotechnologie, Medizin und Molekularbiologie sowie auf anderen technischen Gebieten zur Positionierung und Manipulation mikrometergroßer und submikrometergroßer Partikel eingesetzt [G. Weber et al. in "Int. Rev. Cytol." Bd. 131, 1992, S. 1; S.M. Block in "Noninvasive Techniques in Cell Biology", Wiley-Liss., New York 1990, S. 375]. Die Entwicklung der Laser-Pinzette geht vor allem auf A. Ashkin zurück [A. Ashkin in "Phys. Rev. Lett.", Bd. 24, 1970, S. 156]. Das Prinzip des Partikeleinfangs durch optisch induzierte Kräfte beruht darauf, daß neben dem Lichtdruck, der stets ein Teilchen von der Lichtquelle wegdrückt, Gradientenkräfte auftreten, die dazu führen, daß ein Teilchen in einen Fokus gelangt bzw. stabil in diesem gehalten oder mit diesem bewegt wird. Voraussetzung ist, daß die Absorption und Reflexion des Teilchens gering ist, während der Unterschied im Brechungsindex zur Umgebungslösung möglichst groß sein sollte.

Laser-Pinzetten haben in den letzten Jahren vor allem deshalb eine größere Verbreitung erlangt, weil bei gleicher, stets starker Fokussierung des Lichtstrahls sowohl Teilchen, die größer als die Wellenlänge (sogenannte Mie-Teilchen), als auch Teilchen, die kleiner als die Wellenlänge sind (sogenannte

Rayleigh-Teilchen), gefangen werden können. Das sind vor allem biologische Objekte wie Zellen, Organellen und andere Zellbestandteile als auch große Moleküle (wie DNA) und künstliche Mikropartikel [S.M. Block et al. in "Nature", 1990, S. 348; E.M. Bonder et al. in "J. Cell Biol.", Bd. 11, 1990, S. 421].

Elektromagnetische Feldkäfige gehen auf W. Paul [W. Paul et al. in "Forschungsberichte des Wirtschaftsministeriums Nordrhein-Westfalen", Nr. 415 und 450; W. Paul in "Phys. Blätter", Bd. 46, 1990, S. 227] zurück. Sie werden vor allem in der Elementarteilchenphysik zum Fangen und Vermessen atomarer Teilchen bei niedrigem Gasdruck verwendet. 1993 wurden erstmals flüssigkeitsgefüllte, dreidimensionale Mikrofeldkäfige unter Nutzung dielektrophoretischer Kräfte vorgestellt [T. Schnelle et al. in "Biochim. Biophys. Acta", Bd. 1157, 1993, S. 127]. Wird die Leitfähigkeit einer Suspensionslösung höher gewählt, als die mittlere Leitfähigkeit des Teilchens, so sind die im E-Feld induzierten Oberflächenladungen an dem Partikel derart angeordnet und gepolt, daß auf das Partikel abstoßende Kräfte wirken [G. Fuhr et al. in "Biochim. Biophys. Acta" Bd. 1201, 1994 S. 353]. Auch dieses Prinzip kann zum Fangen, Positionieren und Bewegen von Teilchen benutzt werden [T. Schnelle et al. in "Biochim. Biophys. Acta", Bd. 1157, 1993, S. 127]. In diesen dielektrischen Feldkäfigen können ebenfalls den Mie- als auch Rayleigh-Teilchen entsprechende Objekte gehalten werden. Eine Kombination beider Prinzipien zum Zwecke einer höheren Fangkraft wurde mehrfach vorgeschlagen, da das optische und das elektrische Kraftfeld nahezu nicht miteinander interferieren [G. Fuhr et al. in "Topics in Current Chemistry", Bd. 194, 1998, S. 84].

Ein bisher ungelöstes Problem ist die Ermittlung der real im optischen Feld (Lasertrap) auf ein Teilchen wirkenden optisch induzierten Kräfte. Hierzu gibt es mehrere, außerordentlich

zeit- und geräteaufwendige Methoden, die sich wie folgt zusammenfassen lassen:

Variante I [K. Svoboda et al. in "Ann. Rev. Biophys. Biomol. Struc.", 1994, S. 247]:

Auf ein im Laserfokus gefangenes Teilchen wirkt eine kalibrierbare Strömung. Gesucht wird die Strömungsgeschwindigkeit, bei der das Teilchen gerade aus dem Laserfokus gerissen wird oder gerade noch in diesem verbleibt. Aus dieser Strömungsgeschwindigkeit kann über die Stokes'sche Reibung eine Fangkraft berechnet werden. Nachteilig an diesem Verfahren ist vor allem, daß es schwer fällt, mit ein und demselben Teilchen wiederholt Messungen auszuführen, und daß nur sehr komplizierte Kanalaufbauten eine Vermessung in verschiedene Raumrichtungen erlauben. Eine wirklich räumliche (x-, y-, z-) Kraftvermessung ist nicht möglich. Dieses Verfahren ist ferner auf bestimmte Teilchenformen (Kugel, Ellipsoid) mit glatter Oberfläche beschränkt.

Variante II [C.P. Dennis in "Faraday Discuss. Chem. Soc.", Bd. 90, 1990, S. 209]:

Es erfolgt eine Messung der mittleren Auslenkung eines Teilchens im Laserfokus aufgrund der Brown'schen Stöße. Hier ist zwar prinzipiell eine Vermessung in alle Raumrichtungen möglich, sie erfordert jedoch eine sehr präzise Messung der Partikelbewegung mit Submikrometergenauigkeit und kann für die meisten Mie-Teilchen nicht verwendet werden, da diese zu groß für eine merkliche Auslenkung sind. Hinzu kommt, daß die Messungen mit steigender Laserleistung immer schwieriger und ungenauer werden und daß nur im sehr engen Fokalbereich des Lasers gearbeitet werden kann.

Variante III [C.P. Dennies et al. in "Applied Optics", 1993, S. 1629]:

Es wird ein Abreißen eines Teilchens mittels einer Laser-Pinzette untersucht, das in definierter Weise an einer Unterlage befestigt ist. Dabei wird die Streuung einer evaneszenten Oberflächenwelle bei Totalreflexion benutzt, um die Bewegung des Objektes in z-Richtung (senkrecht zur Oberfläche) mit einer Genauigkeit im nm-Bereich zu bestimmen. Auch dieses Verfahren kann nicht in alle Raumrichtungen und vor allem nicht rasch angewendet werden, sondern erfordert einen hohen Kalibrier- und Geräteaufwand. Außerdem entspricht das optische Strahlungsfeld in Oberflächennähe nicht den Verhältnissen in freier Lösung.

Allgemein steht somit eine schnelle und leicht anzuwendende Methode zur Kraftmessung, die vor allem auch in dem später zu nutzenden Umgebungsmedium eines Teilchens, mit eben diesem Teilchen und unter vergleichbaren Bedingungen angewendet werden kann, noch aus.

Ein weiteres, bisher ungelöstes Problem bei der Handhabung mikroskopisch kleiner Teilchen ist die Ermittlung der zwischen Teilchen wirkenden zwischenmolekularen Anziehungskräften (Adhäsionskräfte). Sowohl synthetische, als auch natürliche Partikel auf der Basis biologischer Materialien (insbesondere biologische Zellen oder Zellbestandteile) neigen dazu, bei gegenseitigem Kontakt aneinander zu haften. Adhäsionserscheinungen können je nach Art der Adhäsion in unspezifische und spezifische Adhäsionen oder nach Art der auftretenden Bindungen in Adhäsionen mit chemischen Bindungen oder Adhäsionen mit van-der-Waals-Bindungen unterschieden werden. Die Ermittlung der Spezifität, des Bindungstyps und damit der Bindungskräfte bei Adhäsionen zwischen mikroskopisch kleinen Partikeln sind von hohem Interesse im Bereich der Biologie, Medizin und Pharmakologie. So besteht ein Bedarf an quantifizierbaren, wieder-

holbaren und schonenden Verfahren zur Erfassung von Adhäsionserscheinungen an einzelnen Teilchen, z.B. zur Erfassung spezifischer Bindungen von Makromolekülen (die hier ebenfalls als mikroskopische Teilchen aufgefaßt werden) an biologischen Zellen für die Untersuchung der Immunantwort oder für die Erkennung von Infektions- oder anderen Krankheitszuständen von Zellen. Ein weiteres Beispiel sind Wechselwirkungen zwischen mikroskopischen Teilchen, bei denen spezifische Rezeptor-Ligand-Systeme auf den Teilchenoberflächen wirksam werden.

Ein Verfahren zur Einstellung vorbestimmter Adhäsionserscheinungen zwischen einzelnen suspendierten mikroskopischen Teilchen oder zur Bestimmung der dabei auftretenden Bindungskräfte ist bisher nicht verfügbar.

Aus der Publikation von K. Morishima et al. in "Proc. of IEEE", 1997, S. 155, ist der kombinierte Einsatz optisch induzierter Kräfte und elektrischer Feldkräfte zur Manipulierung von Bakterien bekannt. Dabei ist vorgesehen, in einem Mikrosystem unter mikroskopischer Beobachtung innerhalb einer Bakterienanhäufung eine vorbestimmte Bakterie mit einer Laser-Pinzette einzufangen und zu fixieren, während die übrigen Bakterien unter Wirkung der elektrischen Feldkräfte von der einzelnen, fixierten Bakterie weg bewegt werden. Die von K. Morishima et al. beschriebene Verfahrensweise ist in ihrer Anwendung auf die dort beschriebene Trennung einzelner Teilchen aus einer Gruppe von vielen Teilchen beschränkt. Es ist lediglich vorgesehen, die elektrischen Felder ein- oder auszuschalten, um eine trennende Teilchenbewegung zu bewirken. Eine Untersuchung der Wechselwirkung zwischen Teilchen wird damit nicht ermöglicht. Des weiteren ist es ausgeschlossen, daß einzelne Teilchen zu einer vorhandenen Gruppe von Teilchen oder einem Teilchenaggregat zur Erzielung bestimmter Wechselwirkungen bewegt werden.

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, verbesserte Verfahren zur Handhabung von Teilchen mit Laser-Pinzetten anzugeben, mit denen insbesondere die Ermittlung von optisch induzierten Kräften oder Bindungskräften und die Ausübung vorbestimmter Kräfte ermöglicht wird. Ein erfindungsgemäßes Verfahren soll insbesondere die Kräftermittlung mit einer erhöhten Meßgeschwindigkeit und einer besseren Reproduzierbarkeit und Genauigkeit gewährleisten. Die Ermittlung von Kräften, die auf mikroskopische Teilchen wirken, soll über ein elektrisches Signal in rasch wiederholbarer und automatisierbarer Form erfolgen, wobei die Kräfte mit einer Genauigkeit im pN-Bereich und darunter in beliebigen Raumrichtungen erfaßt werden sollen. Die Aufgabe der Erfindung ist es auch, Vorrichtungen zur Implementierung der Verfahren anzugeben.

Die genannten Aufgaben werden durch Verfahren bzw. Vorrichtungen mit den Merkmalen gemäß den Patentansprüchen 1 bzw. 17 gelöst. Vorteilhafte Ausführungsformen und Verwendungen der Erfindung ergeben sich aus den abhängigen Ansprüchen.

Erfindungsgemäß ist insbesondere vorgesehen, mindestens ein mikroskopisches Teilchen im Fokus eines optischen Käfigs in einer Mikroelektrodenanordnung einzufangen und in Bezug auf einen elektrischen Fangbereich (o. Fangpunkt) zu positionieren, der durch elektrische Feldgradienten in der Mikroelektrodenanordnung gebildet ist. Der Fokus des optischen Käfigs mit dem Teilchen wird zunächst mit Abstand vom Fangbereich, d.h. mit Abstand vom elektrischen Feldminimum des Fangbereiches, der einen elektrischen Feldkäfig darstellt, positioniert. Anschließend werden die Feldkräfte im optischen Käfig und/oder im elektrischen Fangbereich und/oder der Abstand zwischen dem optischen Käfig und dem elektrischen Fangbereich variiert, bis eine Übergangsbewegung des Teilchens vom Fokus zum Fangbereich oder umgekehrt erfolgt. Je nach Anwendungsfall werden die beim Eintritt der Übergangsbewegung gegebenen Feldeigenschaften zur

erfindungsgemäßen Kräftebestimmung oder die Übergangsbewegung an sich zur Ausübung vorbestimmter Kräfte verwendet.

Entsprechend der erfindungsgemäßen Verfahrensweise werden somit innerhalb einer Mikroelektrodenanordnung mit einem dreidimensionalen elektrischen Feld, das elektrische, den Fangbereich bildende Feldgradienten aufweist, auf das oder die Teilchen wirkende Kräfte erzeugt, deren Felder jeweils ein Minimum besitzen. Das Minimum der elektrischen Feldkräfte entspricht dem Fangbereich. Das Minimum der optischen induzierten Kräfte ist der Fokus des optischen Käfigs. Zwischen beiden Minima ist eine Feldbarriere vorhanden, die von den Amplituden der wirksamen elektrischen Felder, der Lichtleistung des optischen Käfigs und dem Abstand der Minima abhängt. Je nach Einstellung dieser Größen können nun das oder die Teilchen innerhalb der Mikroelektrodenanordnung in vorbestimmter Weise positioniert oder (bei mehreren Teilchen) voneinander getrennt werden.

Gemäß einem ersten wichtigen Gesichtspunkt der Erfindung ist vorgesehen, die auf ein Teilchen im Fokus eines optischen Käfigs wirkenden, optisch induzierten Kräfte zu bestimmen. Bei dieser Ausführungsform ist nur ein Teilchen im Fokus bzw. zeitweilig im Fangbereich der Mikroelektrodenanordnung vorhanden. Die Feldeigenschaften, d.h. die Amplitude des elektrischen Feldes, die Lichtleistung und/oder der Abstand der Minima, wird variiert, bis die Übergangsbewegung des Teilchens zwischen den Minima, d.h. zwischen dem Fokus und dem Fangbereich oder umgekehrt, erfolgt. Überraschenderweise konnte festgestellt werden, daß die Übergangsbewegung sehr genau und reproduzierbar ermittelbar ist. Aus der zum Auslösen der Übergangsbewegung erforderlichen Amplitude der elektrischen Felder in der Mikroelektrodenanordnung lassen sich die optisch induzierten Kräfte im optischen Käfig ermitteln.

Gemäß einem zweiten wichtigen Gesichtspunkt der Erfindung ist vorgesehen, die Bindungskräfte zwischen mehreren Teilchen (z.B. zwei Teilchen) zu bestimmen. Bei dieser Ausführungsform ist jeweils ein Teilchen im Fokus des optischen Käfigs und ein Teilchen im elektrischen Fangbereich angeordnet. Wiederum lassen sich die Feldeigenschaften in der Mikroelektrodenanordnung variieren, um diejenigen Feldeigenschaften festzustellen, bei denen die Übergangsbewegung des Teilchens vom Fokus zum Teilchen im Fangbereich oder umgekehrt erfolgt. Dieses Prinzip ist entsprechend auch mit Teilchengruppen im Fokus bzw. im Fangbereich realisierbar.

Aus den elektrischen Feldkräften und - bei Kombination der Bestimmung von Bindungskräften mit der Bestimmung optisch induzierter Kräfte gemäß dem ersten Gesichtspunkt - den optisch induzierten Kräften können durch Beobachtung der Übergangsbewegung oder einer Abreißbewegung zwischen den Teilchen die zwischen den Teilchen wirkenden adhäsiven Bindungskräfte ermittelt werden. Ein besonderer Vorteil der Erfindung besteht darin, daß diese Vorgänge stoff-, teilchen- und bindungstypspezifisch beobachtet und ausgewertet werden können.

Gemäß einem dritten wichtigen Gesichtspunkt der Erfindung ist vorgesehen, mikroskopische Teilchen in einer Mikroelektrodenanordnung mit den genannten, simultan vorhandenen mindestens zwei Feldminima unter Einstellung vorbestimmter Feldkräfte relativ zueinander zumindest zeitweilig in Gruppen oder Aggregaten zu positionieren oder zusammenzufügen oder derartige Gruppen oder Aggregate in Teile zu zerlegen. Diese erfindungsgemäße Aggregatmanipulierung wird wiederum vorzugsweise mit den obengenannten Gesichtspunkten der Erfindung kombiniert, kann aber auch davon abhängig bei Einstellung vorbestimmter (wenn auch unbekannter) elektrischer und/oder optischer Feldkräfte implementiert werden.

Gegenstand der Erfindung ist auch ein Mikrosystem, das zur Ausbildung eines opto-elektrischen Doppelkäfigs eingerichtet ist, der durch die simultane Erzeugung von mindestens zwei Feldminima eines elektrischen Fangbereiches und eines optischen Käfigs erzeugt wird. Hierzu besitzt ein fluidisches Mikrosystem eine Mikroelektrodenanordnung zur Erzeugung des elektrischen Fangbereiches und eine für die Ausbildung des optischen Käfigs innerhalb der Mikroelektrodenanordnung transparente Struktur. Das Mikrosystem ist vorzugsweise ein fluidisches Mikrosystem, das einseitig, hin zu einer Lichtquelle zur Erzeugung des optischen Käfigs offen sein kann.

Es wird darauf hingewiesen, daß die zur Implementierung der Erfindung eingesetzten Techniken zum Aufbau des Mikrosystems, zur Erzeugung des elektrischen Feldkräfte und zur Erzeugung des optischen Käfigs an sich bekannt sind, so daß bei der folgenden Beschreibung hierzu auf Einzelheiten nicht eingegangen wird.

Im folgenden werden zunächst allgemeine Erläuterungen zu den der Erfindung zugrundeliegenden Prinzipien gegeben.

Beim "Laser-Trapping" kann ein Teilchen in einem lokalen Gleichgewicht gehalten werden, das durch eine optische Falle oder einen optischen Käfig im Fokus mindestens eines Laserstrahls gebildet wird. In einem Hochfrequenz-Mikrofeldkäfig kann ein Teilchen in einem lokalen Gleichgewicht gehalten werden, das durch einen elektrischen Fangbereich der jeweilig realisierten Feldverteilung gebildet wird. Der Fangbereich kann je nach Feldverteilung durch einen Punkt, eine Linie oder einen Raumbereich gebildet werden. In der folgenden Beschreibung wird ohne Beschränkung auf die Realisierung des Fangbereiches als Fangpunkt Bezug genommen, die Erfindung kann jedoch entsprechend mit beliebig gebildeten Fangbereichen implementiert werden. Die Erfindung beruht gemäß dem obengenannten

ersten Gesichtspunkt insbesondere darauf, die optisch induzierten Kräfte in der optischen Falle (optischer Käfig) aus den elektrischen Kräften auf das Teilchen beim Übergang zwischen den Gleichgewichtszuständen, d. h. vom Fokus zum Fangpunkt oder umgekehrt, zu bestimmen. Die Aufgabe wird also insbesondere dadurch gelöst, daß das "Laser-Trapping" in einem elektrischen Hochfrequenz-Mikrofeldkäfig erfolgt, dessen Feldkräfte und elektrische Feldverteilung bekannt sind und der zur Einkopplung des zur Bildung des optischen Käfigs erforderlichen Laserlichts eingerichtet ist. Durch Verschieben des im Lasertrap (Fokus) gefangenen Teilchens aus dem Fangpunkt des Feldkäfigs bei niedriger elektrischer Fangleistung in eine definierte Position mit Abstand vom Fangpunkt kann durch nachfolgende Erhöhung der Amplitude der elektrischen Ansteuersignale des Feldkäfigs genau der Schwellwert bestimmt werden, bei dem die elektrischen Feldkräfte das Teilchen aus dem optischen Fokus zurück zum Fangpunkt bewegen, oder umgekehrt.

Die Einkopplung des zur Bildung des optischen Käfigs erforderlichen Laserlichts wird durch verschiedene bauliche Maßnahmen am Mikrofeldkäfig erzielt. Zu diesen zählt insbesondere die Anbringung mindestens einer Teilgruppe der Elektroden des Mikrofeldkäfigs auf einem Substrat, das transparent und so dünn ist, daß eine Laserlichtquelle genügend dicht an den Mikrofeldkäfig geführt werden kann, so daß in diesem der Fokus gebildet wird. Bei praktisch verfügbaren Gestaltungen von Laser-Pinzetten umfaßt die Laserlichtquelle u. a. ein Einkoppelobjektiv möglichst hoher numerischer Apertur. Dadurch ist die Brennweite üblicherweise im Bereich einiger hundert Mikrometer. Das transparente Substrat besitzt somit vorzugsweise eine Dicke kleiner als die Brennweite der Laserlichtquelle.

Die Erfindung erlaubt je nach Anwendung, die qualitativen und/oder quantitativen Parameter der optisch induzierten Kräfte an einem Teilchen zu erfassen. Die quantitative Bestimmung

der optisch induzierten Kräfte kann aus wenigen Größen erfolgen, die z. B. die Orte des Fokus und des Fangpunktes, die Feldverteilung zwischen den Elektroden, die elektrischen Eigenschaften des Teilchens und seiner Umgebungslösungen als auch die Form, Phasenlage, Frequenz und Amplitude aller Elektrodensignale umfassen. Alle diese Größen lassen sich unabhängig von der eigentlichen Messung oder vorab auf rein elektrischem Wege oder über eine einmalige numerische Simulation der Feldverteilung im Hochfrequenzkäfig bestimmen. Die optisch induzierten Kräfte, die auf das Teilchen wirken, lassen sich aus der Amplitude der elektrischen Ansteuersignale des elektrischen Feldkäfigs beim Übergang zwischen den Gleichgewichten (Übergangsbewegung) bestimmen. Durch systematisches Verschieben eines in seinen passiven elektrischen Eigenschaften bekannten Partikels in x-, oder/und y-, oder/und z-Richtung können auf diese Weise die Kräfte, die der fokussierte Laserstrahl auf ein Teilchen dieser Größe ausüben kann, quantitativ und orts aufgelöst bestimmt werden.

Ein Vorteil der Erfindung ist es, daß der Kräftegradient der optisch induzierten Kräfte relativ steil ist, so daß der genannte Übergang zwischen den Gleichgewichten schwellwertartig oder sprunghaft erfolgt und somit besonders leicht und genau registriert werden kann.

Erfindungsgemäß kann diese Prozedur automatisiert und zur Kalibrierung des Laserstrahls benutzt werden. Die Messungen lassen sich beliebig oft wiederholen, lassen sich in wenigen Sekunden ausführen und können zudem an ein und demselben Teilchen in der später weiter verwendeten Umgebung durchgeführt werden. Neben Absolutwerten der optisch induzierten Kräfte können Symmetrieabweichungen der optischen Strahlung und deren Intensitätsprofile nahe und im Fokusbereich, d.h. auch relative Werte, bestimmt werden.

Die obigen Erläuterungen zur Bestimmung optischer induzierter Kräfte gelten entsprechend für die Bestimmung von Bindungskräften, da diese als zusätzlicher Beitrag zu den elektrischen Feldkräften im elektrischen Fangbereich aufgefaßt werden können.

Die Erfindung ist mit beliebigen Teilchen wie synthetischen Partikeln oder biologischen Zellen oder deren Bestandteilen implementierbar. Die Teilchengröße liegt im gesamten Größenbereich von Teilchen, die mit Laserpinzetten manipulierbar sind, vorzugsweise bei einer Größe kleiner als 200 μm .

Bevorzugte Ausführungsbeispiele der Erfindung werden nachfolgend unter Bezugnahme auf die beigefügten Zeichnungen näher erläutert. Es zeigen:

- Fig. 1: eine Prinzipdarstellung der Anordnung von Feldkäfigelektroden und eines optischen Käfigs gemäß einer ersten Ausführungsform der Erfindung;
- Fig. 2: eine weitere Prinzipdarstellung der Anordnung von Feldkäfigelektroden und eines optischen Käfigs;
- Fig. 3: eine Kurvendarstellung zur Illustration experimenteller Ergebnisse;
- Fig. 4: beispielhafte Darstellungen der Feldverteilungen eines Oktopol-Feldkäfigs;
- Fig. 5: eine Kurvendarstellung zur Illustration der Fangkräfte des in Figur 4 gezeigten Feldkäfigs in z-Richtung;

Fig. 6: eine Prinzipdarstellung der Anordnung von Zellen in einem optischen Käfig und einem Fangbereich gemäß einer zweiten Ausführungsform der Erfindung;

Fig. 7: eine Prinzipdarstellung der Anordnung von Zellen in einer Mikroelektrodenanordnung gemäß einer dritten Ausführungsform der Erfindung;

Fig. 8: eine Prinzipdarstellung der Anordnung von Zellen in einer Mikroelektrodenanordnung gemäß einer vierten Ausführungsform der Erfindung; und

Fig. 9: eine schematische Darstellung einer erfindungsgemäßen Vorrichtung.

Die Erfindung wird im folgenden unter Bezug auf die Kombination eines Oktopol-Feldkäfig zur Bildung des Fangsbereiches mit einem einzelnen Fang-Laserstrahl zur Bildung des optischen Käfigs beschrieben, ist jedoch entsprechend mit beliebigen Feldkäfigformen bzw. mehreren Laserstrahlen realisierbar.

In Fig. 1 ist ein erfindungsgemäßes Mikrosystem ausschnittsweise vergrößert schematisch dargestellt. Die Darstellung zeigt lediglich eine Mikroelektrodenanordnung, bestehend aus den Mikroelektroden 11 bis 18 (ohne Steuerleitungen) und ein zwischen den Mikroelektroden in einer Suspensionsflüssigkeit suspendiertes mikroskopisches Teilchen 113. Die Mikroelektroden sind in planarer Gestalt an gegenüberliegenden Wänden der Mikrosystemstruktur angeordnet, wobei beispielsweise die x-y-Ebene eine Substratebene aufspannt. Die Mikroelektroden 11 bis 18 sind dazu eingerichtet, mit elektrischen Potentialen derart beaufschlagt zu werden, daß Feldgradienten mit einem Feldminimum gebildet werden. Die Technik der Elektrodenansteuerung zur Erzeugung eines vorbestimmten Minimums ist an sich bekannt und wird deshalb hier im einzelnen nicht beschrieben. Die Lage des

Feldminimums ist von den Phasen und Amplituden der Steuerpotentiale an den Mikroelektroden 11 bis 18 abhängig und kann in vorbestimmter Weise eingestellt werden. Der Fangbereich bzw. der elektrische Feldkäfig wird auch als Hochfrequenzkäfig bezeichnet, da die Mikroelektroden vorzugsweise mit hochfrequenten Steuerpotentialen (Frequenzbereich s. unten) zur Manipulierung der mikroskopischen Teilchen auf der Basis negativer Dielektrophorese beaufschlagt werden.

Gemäß Fig. 1 wird der durch die Mikroelektroden 11 bis 18 gebildete elektrische Hochfrequenzfeldkäfig mit dem fokussierten Lichtstrahl 19 so kombiniert, daß sich der Fokus 110a im elektrischen Feld der Mikroelektroden, d. h. entweder innerhalb des Feldkäfigraumes 111 oder in unmittelbarer Nähe 112 außerhalb des Käfigs befindet, während das Feldminimum der Fangpunkt 110b des Hochfrequenzfeldkäfigs an einem dazu beabstandeten Ort (z.B. einen Bruchteil bis zu mehrere Partikeldurchmessern entfernt) liegt (z.B. an der Stelle 114, charakterisiert durch die Koordinaten (x_1, y_1, z_1)).

Die erfindungsgemäße Bestimmung optisch induzierter Feldkräfte am Teilchen 113 erfolgt derart, daß zunächst das Teilchen 113 im Fokus des Laserstrahls gefangen und durch eine Fokusverschiebung in die bezeichnete Position (z.B. 114) gebracht wird. Die Fokusverschiebung erfolgt durch eine mechanische Änderung der Relativpositionen des Mikrosystems und der Quelle des Laserstrahls 19 durch an sich bekannte Verstelleinrichtungen und/oder Umlenkeinrichtungen des Laserstrahls. Über eine Erhöhung der Amplitude der an die Elektroden angelegten Hochfrequenzsignale werden die elektrischen Polarisationskräfte des Feldkäfigs solange erhöht, bis das Teilchen 113 aus dem Laserfokus herausgerissen wird und sich in den Fangpunkt 110b bewegt (Übergangsbewegung zwischen den lokalen Gleichgewichten in den Feldminima).

Der Übergang zwischen den lokalen Gleichgewichten kann alternativ auch ausgeführt werden, indem die Laserleistung erhöht wird und das Teilchen aus dem Fangbereich des Feldkäfigs in den Fokus bewegt wird und/oder indem die Orte der Fangpunkte oder des Fokus verschoben werden und eine Bestimmung des Weges oder Abstandes der Feldminima erfolgt, bei dem die Übergangsbewegung stattfindet. Da die elektrischen Polarisationskräfte auf das Teilchen und die Feldverteilung zwischen den Elektroden 11 bis 18 bekannt sind, besteht eine direkte Proportionalität zwischen der meßbaren Laserleistung im Fokalbereich, der Amplitude der elektrischen Signale und der auf das Partikel wirkenden optisch induzierten Kräfte. Durch Wiederholen der Prozedur und Verschieben des Teilchens 113 in beliebigen Raumrichtungen, lassen sich die auf das konkrete Teilchen wirkenden optisch induzierten Kräfte quantitativ bestimmen. Es handelt sich dabei folglich um eine elektrische Kalibrierung der optisch induzierten Gegenkräfte, die mit geringem Aufwand bereitzustellen ist, und es erlaubt, Kräfte im Bereich von fN bis zu einigen hundert pN zu erfassen.

Die optisch induzierten Kräfte werden somit in mindestens einem Fall aus den Feld- oder Ortseigenschaften des Teilchens 113 bei einer Übergangsbewegung ermittelt, wobei die elektrischen Polarisationskräfte auf das Teilchen 113 aus der an sich berechenbaren Feldverteilung zwischen den Mikroelektroden 11 bis 18 und der bei Ausführung der Übergangsbewegung gegebenen Orte des Fokus 110a und des Fangpunktes 110b ermittelt werden. Diese Orte lassen sich mit einem Beobachtungsmikroskop vermessen. In allen weiteren Fällen kann auf der Grundlage der genannten Proportionalität eine Relativbestimmung der optisch induzierten Kräfte erfolgen.

Figur 2 zeigt eine erweiterte Darstellung eines Systems zur Vermessung der optisch induzierten Kräfte, die auf ein im Fokus gefangenes Teilchen wirken. Der Mikrofeldkäfig wird

durch Mikroelektroden gebildet, die an aufeinander zuweisenden Oberflächen der Substrate 27, 29 angebracht sind. Die Substrate 27, 29 werden durch einen Abstandshalter 28 getrennt, der einen Suspensionsraum bildet, in dem das zu untersuchende Teilchen dem Feld des Mikrofeldkäfigs ausgesetzt wird. Das in Figur 2 obere Substrat ist genügend dünn, so daß der Fokus des optischen Käfigs im Suspensionsraum einstellbar ist.

Über eine Öffnung 21 werden Zellen oder andere Mikropartikel suspendiert in einer Lösung in den Kanal 22 eingespült und gelangen dann in den Feldkäfig 23, dessen Ausgangselektroden 24a-d mit einem Hochfrequenzfeld (kHz- oder MHz-Bereich, beliebige Signalform (z. B. Rechteck-, Sinus-, Dreieck- oder andere Signalformen), Amplitude einige mV bis zu einigen 10 V)) beaufschlagt werden. Durch diese zunächst einseitige Beaufschlagung der Mikroelektroden mit elektrischen Potentialen wird im Kanal 22 lediglich eine elektrische Feldbarriere für eingespülte Mikroteilchen gebildet. Befindet sich ein Teilchen im Käfig 23, werden auch die Eingangselektroden 25a-d zugeschaltet und/oder die Strömung wird gestoppt. Mit dem Laserstrahl 26 wird wie oben beschrieben das Teilchen im Feldkäfigraum bewegt und die Vermessung der optisch induzierten Kräfte vorgenommen. Die für das elektrische Trapping typischen Phasenverschiebungen der Elektrodensignale für zwei mögliche Wechselfeld- und zwei Rotationsfeldansteuerungsarten (2* AC-Feld bzw. 2*Rot-Feld) sind in Tabelle 1 zusammengefaßt.

Feld-art	El. 25b	El. 24b	El. 24d	El. 25d	El. 25a	El. 24a	El. 24c	El. 25c
AC-Feld	0°	180°	0°	180°	0°	180°	0°	180°
AC-Feld	0°	180°	0°	180°	180°	0°	180°	0°
Rot-Feld	0°	90°	180°	270°	180°	270°	0°	90°
Rot-Feld	0°	90°	180°	270°	90°	180°	270°	0°

Tab. 1 Phasensteuerungen der Elektrodensignale eines Oktopols

Beim Rot-Feld wird im Unterschied zum AC-Feld ein Drehmoment auf das Teilchen ausgeübt, das zur Ausbildung einer Rotation (letzte Zeile von Tab.1) führt, die zusätzlich zur Kraftbestimmung genutzt werden kann. Mit den Werten der vorletzten Zeile von Tabelle 1 erfolgt eine Drehmomentkompensation.

Im vorliegenden Beispiel sind die Elektroden in planarer Form auf zwei Glassubstrate 27, 29 mit halbleitertechnologischen Methoden prozessiert worden, die über Kopf durch einen Spacer 28 flüssigkeitsdicht montiert sind, so daß sie in die Kanalflüssigkeit 22 eintauchen. Für eine hohe Laserfokussierung ist es erforderlich, eines der Glassubstrate (hier (27)) möglichst dünn auszuführen. Im vorliegenden Beispiel ist das Substrat 27 150 bis 200 μm dick, und das Substrat 29 besteht aus 0.5 bis 1 mm dickem Glas oder Kunststoff.

Bei steigender Laser-Ausgangsleistung wachsen die optisch induzierten Kräfte, so daß zum genannten Übergang zwischen den Feldminima entsprechend steigende elektrische Feldkräfte, d. h. Signalamplituden, erforderlich sind. Dies ist anhand eines experimentellen Ergebnisses in Figur 3 dargestellt. Diese Kurvendarstellung zeigt den Zusammenhang zwischen der Laserausgangsleistung, d. h. dem Betrag der optisch induzierten Kräfte und den Amplituden der Käfigspannungen, d. h. den Amplituden der elektrischen Potentiale, mit denen die Mikroelektroden beaufschlagt sind. Mit zunehmender Laserausgangsleistung sind auch größere Amplituden der Käfigspannungen erforderlich, um die Übergangsbewegung des jeweiligen Teilchens zwischen dem Fokus und dem Fangpunkt zu erzielen. Deutlich ist zu erkennen, daß die Fangleistung der optischen Falle in z-Richtung schwächer ist (obere Kurve) als in x- oder y-Richtung (untere Kurve).

Aus einer Feldverteilung gemäß Figur 4 (erhalten aus einer einmalig auszuführenden numerischen Berechnung unter Beachtung der realen Elektrodengeometrien gemäß Figur 1 und Abstände) und den passiven elektrischen Eigenschaften des Testpartikels (in diesem Fall eines Latex-Beads von 8 μm Durchmesser), ergeben sich die in Figur 5 dargestellten Fangkräfte der Laser-Pinzette in z-Richtung. Die dargestellte Kurve bezieht sich auf eine Signalamplitude der Käfigelektroden von 10 V. Experimentell konnten Amplituden bis zu 30 V appliziert werden. Bei einer quadratischen Abhängigkeit der Fangkraft des elektrischen Käfigs entspricht das einer maximal erfaßbaren Kraft von ca. 150 pN mit einer Auflösung im pN-Bereich und darunter. Dieses Meßergebnis steht in guter Übereinstimmung mit der Theorie der "Laser-Pinzetten" (vgl. A. Ashkin in "Biophys. J.", Bd. 61, 1992, S. 569). Feiner ausgeführte Elektroden erlauben es, noch weitaus höhere Signalamplituden und damit elektrisch induzierte Kräfte zu erzeugen, so daß auch wesentlich höhere Kräfte erfaßbar sind.

Ein besonderer Vorteil der Erfindung ist es, daß die Methode schnell und leicht insbesondere auch in dem später zu nutzenden Umgebungsmedium mit den zu untersuchenden oder zu manipulierenden Teilchen unter vergleichbaren Bedingungen angewendet werden kann. Ferner ist dieses Verfahren nicht auf bestimmte Teilchen- und Oberflächenformen beschränkt, sondern mit beliebigen Teilchengeometrien realisierbar. Es können sogar die Kräfte an zusammenhängenden Teilchengruppen (z. B. Aggregate o. dgl.) beliebiger Form bestimmt werden.

Beispiele für die Bestimmung von Kräften an zusammenhängenden Teilchengruppen und die Ausübung vorbestimmter Kräfte auf Teilchen zur Manipulierung von Teilchengruppen werden im folgenden unter Bezug auf die Figuren 6 bis 8 beschrieben.

Figur 6 zeigt eine Mikroelektrodenanordnung in Oktopolgestalt mit den Mikroelektroden 61 bis 68 analog zu Figur 1. Die Mikroelektroden 61 bis 64 bzw. 65 bis 68 sind in einem zur Implementierung des erfindungsgemäßen Verfahrens eingerichteten Mikrosystem in zwei voneinander beabstandeten Ebenen zur Ausbildung eines elektrischen Feldkäfigs mit einem den Fangbereich oder -punkt bildenden Feldminimum angeordnet. Der elektrische Feldkäfig wird im Inneren der Mikroelektrodenanordnung ausgebildet, das durch den in Figur 6 dargestellten Quader schematisch umrissen wird. Das Bezugszeichen 69 bezeichnet einen im Innenraum der Mikroelektrodenanordnung fokussierten Lichtstrahl (vorzugsweise Laserstrahl). Ein erstes Teilchen in Gestalt einer biologischen Zelle 611 befindet sich im Fokus des Lichtstrahls 69. Ein zweites Teilchen, das beim dargestellten Beispiel ebenfalls eine biologische Zelle 612 ist, befindet sich im Fangpunkt des elektrischen Feldkäfigs. Analog zur oben erläuterten Ermittlung der optisch induzierten Kräfte durch Beobachtung der Übergangsbewegung eines Teilchens vom Fokus in den Fangbereich kann nun eine Bestimmung der Bindungskräfte zwischen den Teilchen durchgeführt werden, wie dies im folgenden erläutert wird.

Zuerst werden zwei Zellen 611, 612 in Folge in den Innenraum der Mikroelektrodenanordnung 61 bis 81 eingebracht. Dies erfolgt vorzugsweise mit der unter Bezug auf Figur 2 erläuterten Einspültechnik, bei der die Mikroelektrodenanordnung mit einer Kanalstruktur eines fluidischen Mikrosystems verbunden ist. Die erste Zelle 611 wird in die Mikroelektrodenanordnung eingespült und nach vollständiger Ansteuerung des Oktopolfeldes im elektrischen Fangbereich gehalten. Dann wird die erste Zelle 611 mit dem optischen Käfig, der durch den Laserstrahl 69 gebildet wird, übernommen und vom Fangbereich beabstandet positioniert. Anschließend erfolgt das Einspülen der zweiten Zelle 612 und deren Positionierung im Fangbereich, z.B. in der Mitte der Mikroelektrodenanordnung 61 bis 68. Es ist aber auch

jede andere Technik der Einbringung mikroskopischer Teilchen in die Mikroelektrodenanordnung möglich. Anwendungsabhängig sind beide Teilchen biologische Zellen gleicher oder verschiedener Art oder biologische Zellen oder Zellbestandteile einerseits und/oder synthetische Teilchen mit vorbestimmten Wirkstoffen andererseits.

Im weiteren Verlauf werden die Zellen 611, 612 in Kontakt gebracht, wobei zwischen beiden Zellen eine adhäsive Bindung ausgebildet wird. Die adhäsive Bindung wird beispielsweise durch eine der folgenden Techniken herbeigeführt. Erstens ist es möglich, die erste Zelle 611 durch Abschalten des Laserstrahls 69 freizugeben und dadurch unter Wirkung der elektrischen Feldkräfte hin zum Fangbereich des elektrischen Feldkäfigs zu bewegen, wo die Berührung der zweiten Zelle 612 und die Ausbildung der adhäsiven Bindung erfolgt. Zweitens ist es möglich, den Fokus des Laserstrahls 69 in Bezug auf den Fangbereich so zu verstellen, daß die erste Zelle 611 mit der zweiten Zelle 612 in Kontakt gebracht oder sogar mit einer vorbestimmten Kraft gegen diese gedrückt wird. Die gegenseitige Kraft des Aneinanderdrückens der Zellen läßt sich aus den elektrischen Feldkräften im Fangbereich und den beispielsweise gemäß der oben erläuterten Technik ermittelten optischen Kräfte im Fokus des Laserstrahls 69 ableiten. Zur quantitativen Vergleichbarkeit der Bestimmung von Bindungskräften wird die adhäsive Bindung für einen vorbestimmten Zeitbereich (z.B. rd. 0.1 bis 10 Sekunden) eingestellt. Es sind aber auch längere Zeiten von z.B. bis zu 1000 Sekunden möglich.

Nach Ablauf der anwendungsabhängig eingestellten Kontaktzeit werden die Bindungskräfte (Wechselwirkungskräfte, Adhäsionsstärke) zwischen den Zellen wie folgt bestimmt. Die Kräftebestimmung erfolgt analog zur oben erläuterten Bestimmung der optisch induzierten Kräfte auf ein einzelnes Teilchen durch Variation der Feldeigenschaften und Feststellung derjenigen

Feldstärken im elektrischen Fangbereich und optischen Käfig, bei denen eine Abreißbewegung zwischen den Zellen erfolgt. Beispielsweise wird bei gegebenen elektrischen Potentialamplituden wiederholt der auf die erste Zelle 611 fokussierte Laserstrahl 69 verstellt, so daß sich der Fokus vom Fangbereich entfernt, und falls sich die erste Zelle 611 nicht mit dem Fokus bewegt hat, zurückgestellt und mit einer schrittweise erhöhten Lichtleistung beaufschlagt. Durch Kenntnis der in Abhängigkeit von der Lichtleistung induzierten optischen Kräfte läßt sich so aus der Lichtleistung, bei der die Mitführung der ersten Zelle 611 mit dem verstellten Fokus erfolgt, die Abreißkraft zwischen beiden Zellen und damit die gegenseitige Bindungskraft ermitteln. Andere Möglichkeiten dieser Kräftebestimmung ergeben sich aus der schrittweisen Variation der elektrischen Potentialamplituden und Verstellung des Ortes des Fangbereiches durch entsprechende Ansteuerung der Mikroelektroden 61 bis 68. Es sind auch Kombinationen aus beiden Techniken zur Variation der Feldeigenschaften einsetzbar.

Ein besonderer Vorteil dieser Verfahrensweise besteht in ihrer Wiederholbarkeit mit einem gegebenen Teilchenpaar und in der Möglichkeit, beliebige Kontaktzeiten zwischen den Zellen genau vorzugeben.

Bevorzugte Anwendungen der unter Bezug auf Fig. 6 beschriebenen Verfahrensweise, die bisher nicht oder nur unter unannehmbar hohem Aufwand zu verwirklichen war, sind die zeitlich exakt geregelte Berührung zweier oder auch mehrerer biologischer Zellen gleichen oder verschiedenen Typs. Somit ist eine Verwendung für pharmakologisch und medizinisch-diagnostisch interessierende Tests ermöglicht. Beispiele für dabei auftretende Vorgänge sind die Stimulation der zweiten Zelle 612 durch die zeitweilige Berührung durch die erste Zelle 611, so daß sich das Bindungsverhalten der zweiten Zelle 612 ändert. Dieses veränderte Bindungsverhalten kann dann durch Ankopplung

einer dritten Zelle (nicht dargestellt) getestet werden. Ein weiteres Beispiel ist das sogenannte Screening von Peptid- oder anderen Molekularbibliotheken, indem zunächst eine erste Zelle eines ersten Typs in die Mikroelektrodenanordnung eingebracht wird. Die Oberflächenrezeptoren der ersten Zelle werden dann mit einer Test- oder Wirksubstanz aus einer molekularen Bibliothek über die Suspensionslösung im Mikrosystem in Kontakt gebracht. Anschließend wird eine zweite Zelle (oder ein synthetisches Teilchen mit gut bindenden Oberflächenmolekülen) an die erste Zelle herangeführt. Die oben erläuterte Bestimmung der Bindungskräfte liefert z.B. eines der folgenden Ergebnisse. Sind die Bindungsstellen der ersten Zelle bereits durch die Wirksubstanz abgesättigt, so erfolgt keine oder eine schwache Bindung der Testzelle. Andernfalls erfolgt eine starke Bindung der Testzelle. Damit lassen sich biologische Zellen bewerten und in Bezug auf die Reaktion auf bestimmte Wirksubstanzen sortieren.

Ein weiteres Beispiel für die Stimulierung biologischer Zellen wird im folgenden unter Bezug auf Figur 7 erläutert. Figur 7 zeigt analog zu den Figuren 1 und 6 eine Mikroelektrodenanordnung mit den Mikroelektroden 71 bis 78 und einen im Innenraum der Mikroelektrodenanordnung fokussierten Lichtstrahl 79.

Analog zum oben erläuterten Einspül- oder Durchstromprinzip wird eine erste Zelle 711 im elektrischen Fangbereich der Mikroelektrodenanordnung 71 bis 78 eingefangen und positioniert. Eine zweite Zelle 712 oder ein synthetisches Teilchen mit einem Wirkstoff wird mit dem Lichtstrahl 79 eingefangen und entlang eines vorbestimmten Weges 713 an der ersten Zelle 711 vorbeigeführt bzw. für eine vorbestimmte Kontaktzeit mit dieser in Berührung gebracht. Auch wenn es nicht zu einer festen Bindung oder Adhäsion zwischen den Zellen oder Teilchen kommt, kann über die Berührung der Oberflächen eine chemische Signalübertragung erfolgen, die eine anschließend analysierba-

re Veränderung einer oder beider Zellen zur Folge hat. Anstelle der Einzelzellen können auch Zellgruppen oder -aggregate zur gegenseitigen Stimulation für eine vorbestimmte Zeit unter Wirkung vorbestimmter Kräfte zusammengeführt und wieder getrennt werden.

Diese Verfahrensweise zur Stimulation biologischer Zellen oder Zellgruppen besitzt zahlreiche Verwendungen in der Medizin und Biotechnologie. Die Stimulation z.B. durch Applikation eines Medikaments aus der Umgebungslösung, die bisher für einzelne Zellen nur unter hohem Aufwand erreicht werden konnte, kann damit unter definierten und reproduzierbaren Bedingungen zellspezifisch erfolgen. In lebenden Organismen erfolgen derartige Stimulationen (oder Hemmungen) in der Regel auch meist durch Wechselwirkungen zwischen Zellen, wobei diese in enge Nachbarschaft kommen oder sich berühren müssen. Die in Organismen auftretenden Verhältnisse können mit der erfindungsgemäßen Verfahrensweise vorteilhaft simuliert werden.

Auch die in Figur 7 illustrierte Verfahrensweise kann vorteilhaft mit der oben erläuterten Bestimmung optisch induzierter Kräfte kombiniert, jedoch auch unabhängig von dieser unter Einstellung vorbestimmter Feldeigenschaften implementiert werden. Entsprechendes gilt auch für das unter Bezug auf Figur 8 erläuterte Verfahren zur Ausübung vorbestimmter Kräfte auf Zellen oder Zellgruppen zur Aggregatformierung.

Figur 8 zeigt wiederum eine Mikroelektrodenanordnung mit den Mikroelektroden 81 bis 88 und einem im Innenraum der Mikroelektrodenanordnung fokussierten Lichtstrahl 89.

Nach der oben erläuterten Einspül- oder Durchstromtechnik wird eine Vielzahl von biologischen Zellen in den Innenraum der Mikroelektrodenanordnung eingespült. Mit dem optischen Käfig des Lichtstrahls 89 werden Zellen gezielt in den Fangbereich ge-

führt und dort gegebenenfalls relativ zu bereits vorhandenen Zellen positioniert. Beispielhaft sind in Figur 8 vier Zellen 811 bis 814 im elektrischen Fangbereich dargestellt, zu denen eine fünfte Zelle 815 in vorbestimmter Position (entsprechend der Pfeilrichtung) zugefügt wird. Dabei wird die fünfte Zelle 815 für eine vorbestimmte Zeit mit einer vorbestimmten Kraft gegen die bereits formierte Zellgruppe 811 bis 814 gedrückt, um die Ausbildung von Bindungskräften in dieser vorbestimmten Relativposition zu ermöglichen.

In dieser Weise lassen sich beliebige Zellaggregate mit vorbestimmten Aggregatformen aufbauen. Diese Verfahrensweise ist auch mit synthetischen Mikroteilchen implementierbar, die sich negativ polarisieren lassen und im elektrischen Fangbereich von den Mikroelektroden abgestoßen werden (negative Dielektrophorese).

Eine erfindungsgemäße Vorrichtung besteht aus einer Anordnung eines fluidischen Mikrosystems 91, einer Beleuchtungseinrichtung 92 zur Erzeugung eines optischen Käfigs in einer Mikroelektrodenanordnung des Mikrosystems 91, wobei das Mikrosystem 91 und die Beleuchtungseinrichtung 92 mit einer Verstelleinrichtung 93 relativ zueinander verstellbar sind, und einer Beobachtungs- und/oder Sensoreinrichtung 94 (z.B. Mikroskop), wie dies schematisch in Fig. 9 dargestellt ist. Das Mikrosystem ist mit Fluidik- und Potentialsteuereinrichtung 95 versehen, wie dies an sich bekannt ist. Die Beleuchtungseinrichtung 92 ist beispielsweise eine an sich bekannter Laser-Pinzette, die als Lichtquelle beispielsweise einen Diodenlaser oder einen Halbleiterlaser und zur Fokussierung eine Mikroskopanordnung enthält.

PATENTANSPRÜCHE

1. Verfahren zur Bestimmung oder Ausübung optisch induzierter Kräfte auf mindestens ein Teilchen im Fokus eines optischen Käfigs mit den Schritten:

- a) Positionieren des Fokus in einer Mikroelektrodenanordnung mit einem dreidimensionalen elektrischen Feld, das einen elektrischen Fangbereich bildende Feldgradienten aufweist, mit Abstand vom Fangbereich, und
- b) Variation der Amplitude des elektrischen Feldes, der Lichtleistung der den optischen Käfig bildenden Lichtstrahlung und/oder des Abstands des Fangbereiches vom Fokus, um zu erfassen, unter welchen dieser variierten Feldeigenschaften eine Übergangsbewegung des Teilchens vom Fokus zum Fangbereich oder umgekehrt erfolgt oder um eine zumindest zeitweilige Anordnung des Teilchens im Fangbereich bereitzustellen.

2. Verfahren gemäß Anspruch 1, bei dem zur Bestimmung optisch induzierter Kräfte ein Teilchen entweder im Fokus oder im Fangbereich angeordnet wird und die optisch induzierten Kräfte aus der Amplitude des elektrischen Feldes und dem Abstand des Fangbereiches vom Fokus bestimmt wird, bei denen die Übergangsbewegung des Teilchens vom Fokus zum Fangbereich bzw. umgekehrt erfolgt.

3. Verfahren gemäß Anspruch 2, bei dem die Bestimmung der optisch induzierten Kräfte für alle interessierenden Raumrichtungen entsprechend der gegenseitigen Ausrichtung der Position des Fokus zum Fangbereich wiederholt wird.

4. Verfahren gemäß Anspruch 2 oder 3, bei dem eine Kalibrierung des optischen Käfigs durch Ermittlung des Zusammenhangs

zwischen der Lichtleistung zur Erzeugung des optischen Käfigs und den jeweils an einem Teilchen im optischen Käfig induzierten Kräften erfolgt.

5. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 2 bis 4, bei dem der Abstand zwischen dem Fokus und dem Fangbereich mindestens ein Zehntel des Teilchendurchmessers beträgt.

6. Verfahren gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche, bei dem der Fangbereich ein Fangpunkt ist, der innerhalb des Strahlungsfeldes des optischen Käfigs liegt, so daß das Teilchen bei Erniedrigung oder Erhöhung der Amplitude der Elektrodensignale bzw. der Lichtleistung zwischen dem Fangpunkt und dem Fokus hin- und herspringt und der zugehörige Wert der Amplituden zur Bestimmung der optisch induzierten Kräfte verwendet wird.

7. Verfahren gemäß Anspruch 1, bei dem zur Bestimmung von Bindungskräften zwischen mikroskopischen Teilchen mindestens ein erstes Teilchen im Fokus und mindestens ein zweites Teilchen im Fangbereich angeordnet werden, wobei für eine vorbestimmte Kontaktzeit die ersten und zweiten Teilchen in Kontakt gebracht und anschließend die Variation der Amplitude des elektrischen Feldes, der Lichtleistung und/oder des Abstandes des Fangbereiches vom Fokus erfolgt, bis als Übergangsbewegung festgestellt wird, daß das erste Teilchen mit dem Fokus vom Fangbereich und dem zweiten Teilchen entfernt werden kann, wobei die Bindungskräfte zwischen den Teilchen aus der Amplitude des elektrischen Feldes und der Lichtleistung bei der Übergangsbewegung ermittelt wird.

8. Verfahren gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche, bei dem die Elektroden der Mikroelektrodenanordnung alternierend mit um 180° phasenverschobenen Signalen und/oder mit rotationser-

zeugenden Signalen vorbestimmter Phasenaufspaltung beaufschlagt werden.

9. Verfahren gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche, bei dem der Fangbereich durch mindestens eine Feldbarriere vom optischen Käfig getrennt ist.

10. Verfahren gemäß Anspruch 1, bei dem aufeinanderfolgend im Fangbereich eine Vielzahl von Teilchen angeordnet wird, die jeweils mit dem optischen Käfig in den Fangbereich und in diesem in vorbestimmter Position relativ zu gegebenenfalls im Fangbereich bereits vorhandenen Teilchen positioniert werden.

11. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 1 bis 6, bei dem eine Justierung der Lichtstrahlung des optischen Käfigs und/oder eine Bestimmung der Fanggüte, Symmetrie oder weitere Kalibrierungseigenschaften des optischen Käfigs erfolgt.

12. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 1 bis 6, bei dem auf der Grundlage der bestimmten optisch induzierten Kräfte eine Charakterisierung der Teilchen erfolgt.

13. Verfahren gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche, bei dem die Teilchenbewegungen optisch und/oder elektrisch detektiert werden.

14. Verfahren gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche, bei dem die Teilchen synthetische oder natürliche Teilchen mit einer Größe unterhalb von 200 μm sind.

15. Verfahren gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche, bei dem die Teilchen biologische Zellen oder deren Bestandteile sind.

16. Verfahren gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche, bei dem die Übergangsbewegung des Teilchens vom Fangbereich zum Fokus bzw. umgekehrt zur Justage des optischen Käfigs verwendet wird.

17. Vorrichtung zur Bestimmung oder Ausübung optisch induzierter Kräfte auf mindestens ein Teilchen im Fokus eines optischen Käfigs, die umfaßt:

- ein fluidisches Mikrosystem mit einer Mikroelektrodenanordnung, die zur Ausbildung eines dreidimensionalen elektrischen Feldes mit einem elektrischen Fangbereich eingerichtet ist,
- eine Beleuchtungseinrichtung, die zur Ausbildung eines optischen Käfigs innerhalb der Mikroelektrodenanordnung des Mikrosystems eingerichtet ist, und
- eine Beobachtungs- und/oder Detektionseinrichtung zur Erfassung der Bewegung von Teilchen innerhalb der Mikroelektrodenanordnung.

18. Vorrichtung gemäß Anspruch 17, bei der die Mikroelektrodenanordnung planare Elektroden umfaßt, die in Gruppen auf zwei voneinander beabstandeten Substraten angebracht sind, von denen mindestens ein Substrat transparent ist.

19. Vorrichtung gemäß Anspruch 18, bei der das transparente Substrat eine Dicke von weniger als 500 µm besitzt.

20. Vorrichtung gemäß Anspruch 18, bei der die Elektroden an aufeinanderzuweisenden Oberflächen der Substrate angebracht und die Substrate voneinander durch einen Abstandshalter getrennt sind, der einen Suspensionsraum bildet, in dem der Fokus des optischen Käfigs von der Beleuchtungseinrichtung durch eines oder beide Substrate eingekoppelt werden kann.

21. Vorrichtung gemäß Anspruch 20, bei der der Suspensionsraum Teil einer Kanalstruktur ist, durch die die Teilchen mittels

einer Lösungsströmung in das Feld der Mikroelektrodenanordnung führbar sind.

22. Vorrichtung gemäß einem der Ansprüche 17 bis 21, bei der die Mikroelektrodenanordnung eine Vielzahl von Elektroden umfaßt, die zur Erzeugung eines Multipolfeldes mit einer in x-, y- und/oder z-Richtung symmetrischen elektrischen Feldverteilung eingerichtet ist.

23. Vorrichtung gemäß einem der Ansprüche 17 bis 22, bei der die Elektroden mit einer isolierenden, dielektrischen Schicht überzogen sind oder aus gegenüber der Suspensionsflüssigkeit im Mikrosystem im wesentlichen inerten Metallen bestehen.

24. Vorrichtung gemäß Anspruch 23, bei der die Elektroden aus Platin, Titan, Tantal oder Gold bestehen.

25. Vorrichtung gemäß einem der Ansprüche 17 bis 24, bei der die Elektroden mit halbleitertechnologischen Methoden in dreidimensionaler Form oder in Hybridtechnik ausgebildet sind.

26. Verwendung eines Verfahrens oder einer Vorrichtung gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche zur Kalibrierung einer Laser-Pinzette.

27. Verwendung eines Verfahrens oder einer Vorrichtung gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche zur selektiven Stimulation biologischer Zellen.

THIS PAGE BLANK (SP10)

1/9

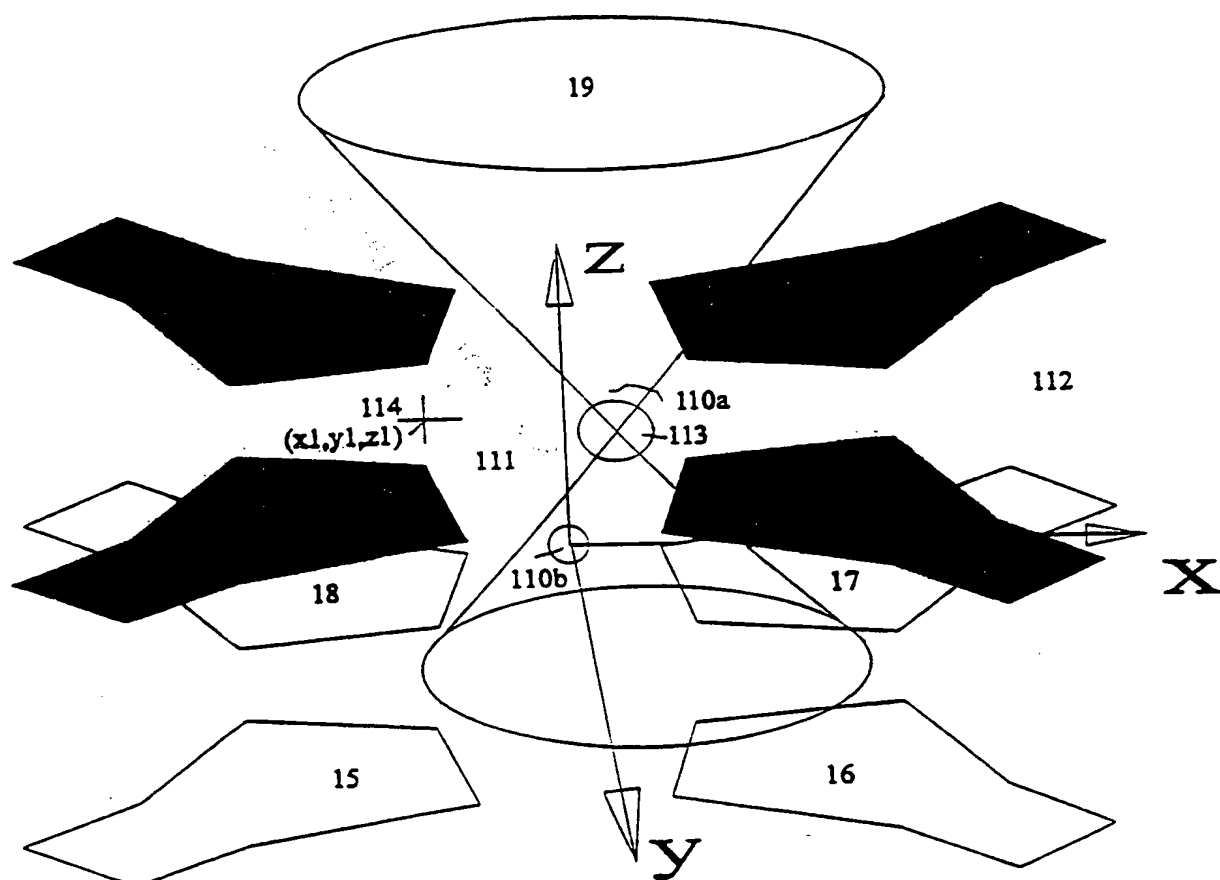
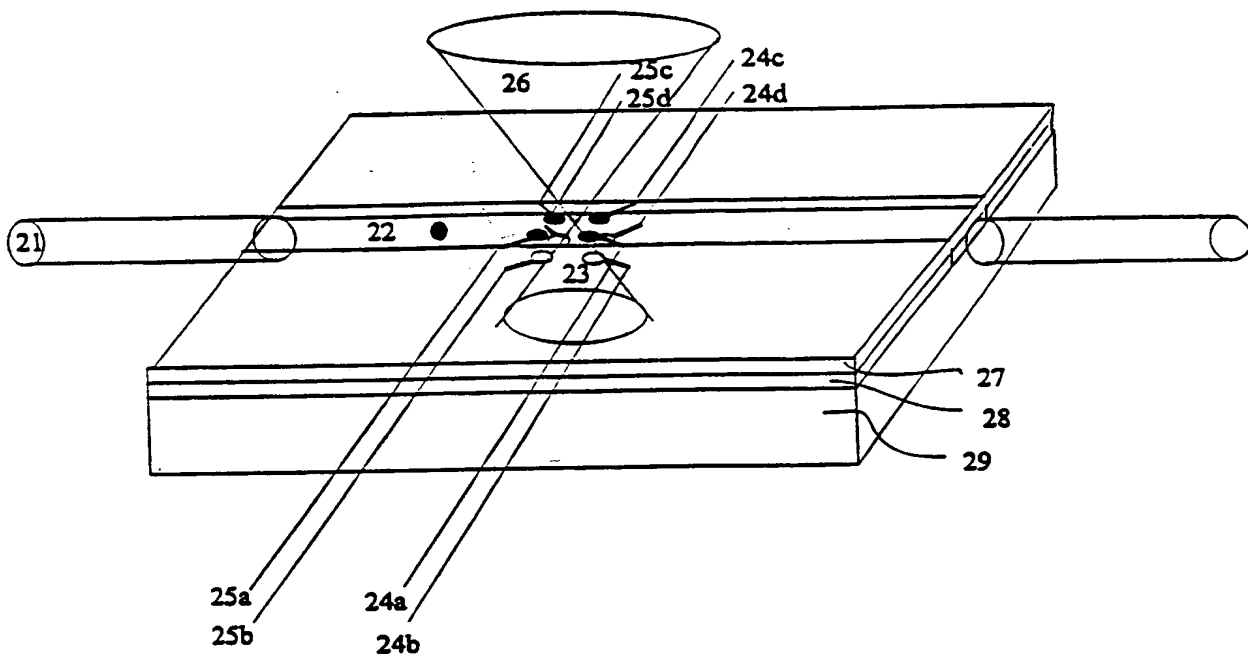


Fig. 1

THIS PAGE BLANK (USPTO)

**Fig. 2**

THIS PAGE BLANK (USPTO)

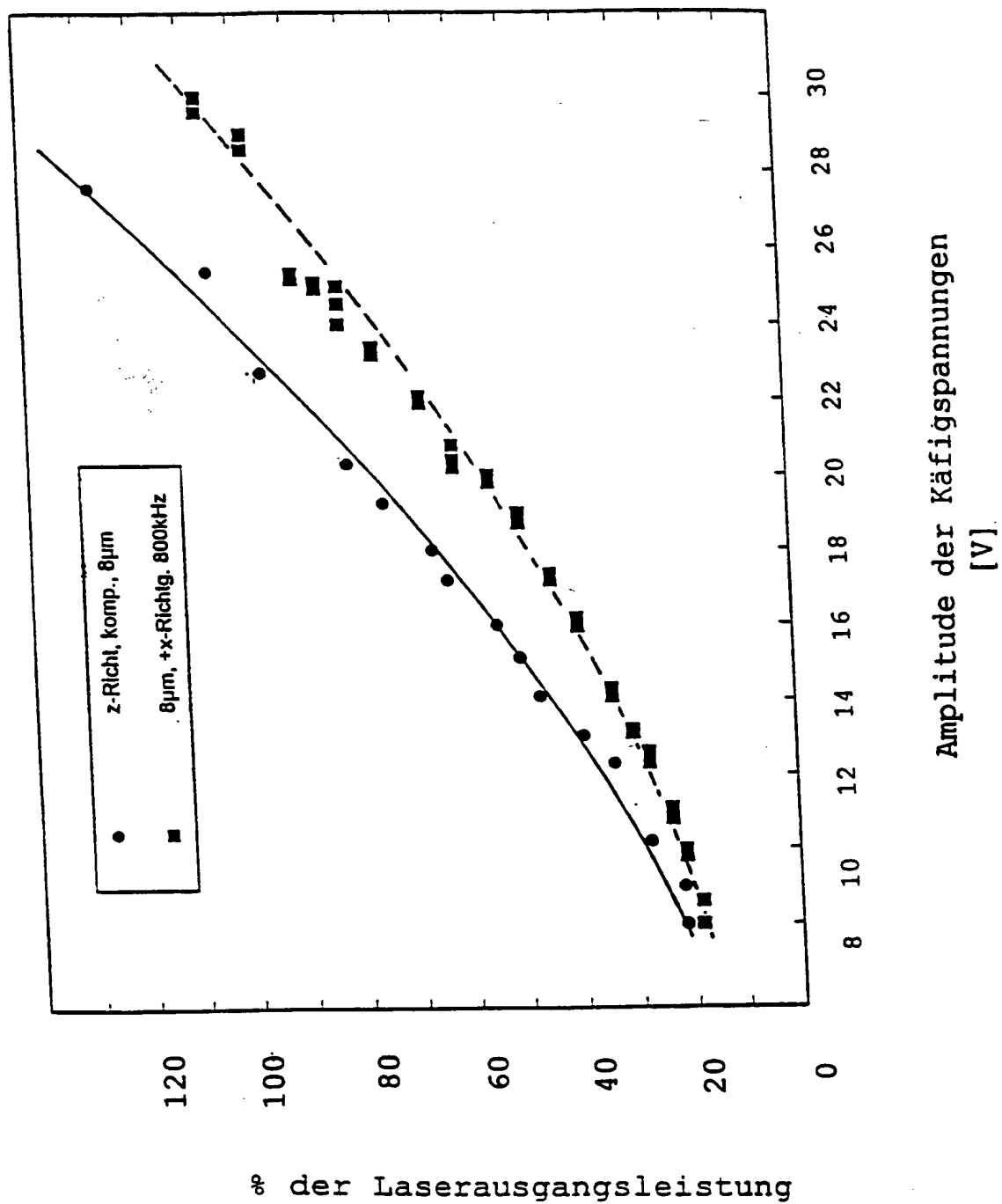
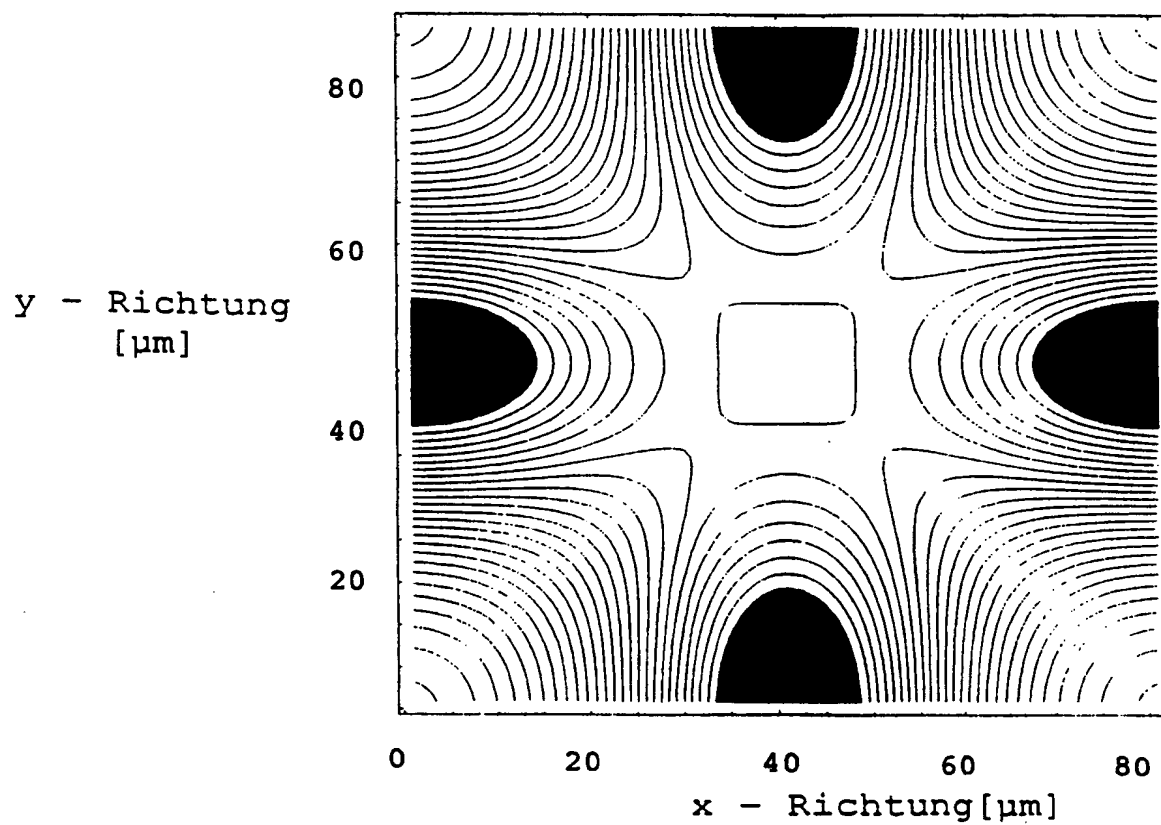
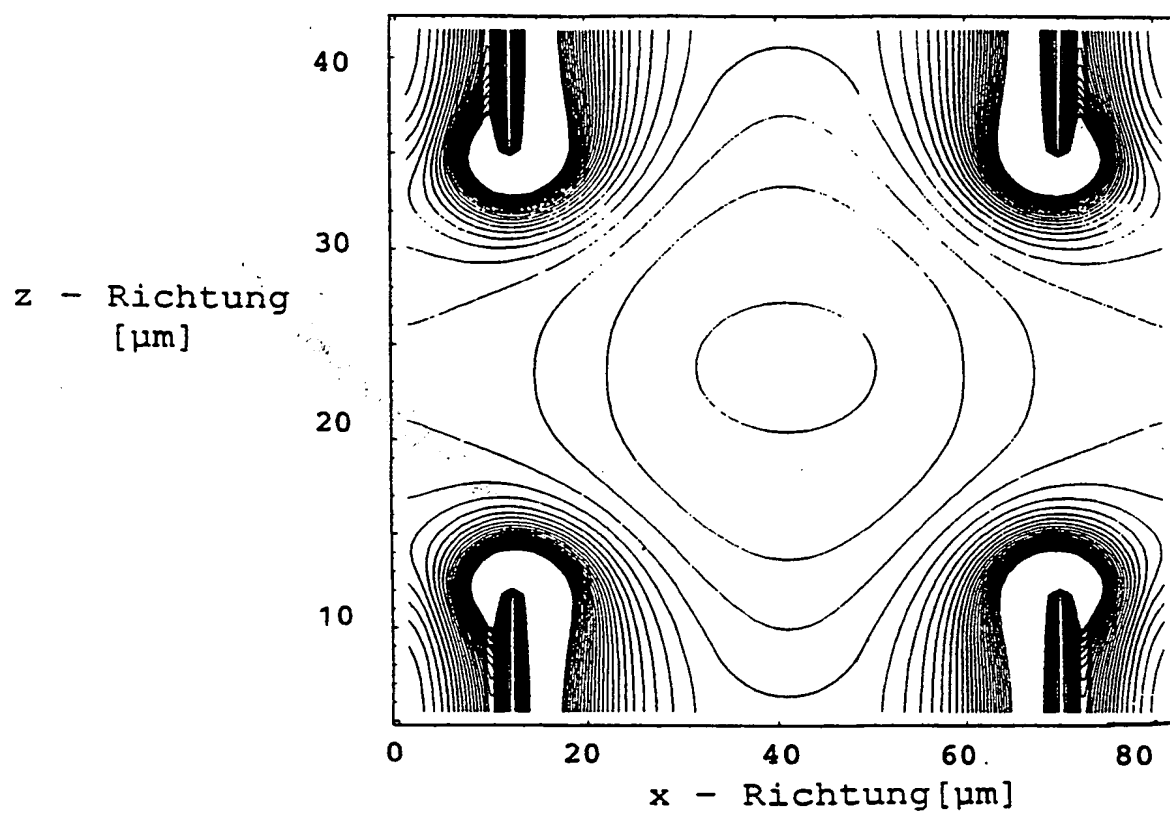


Fig. 3

THIS PAGE BLANK (USPTO)

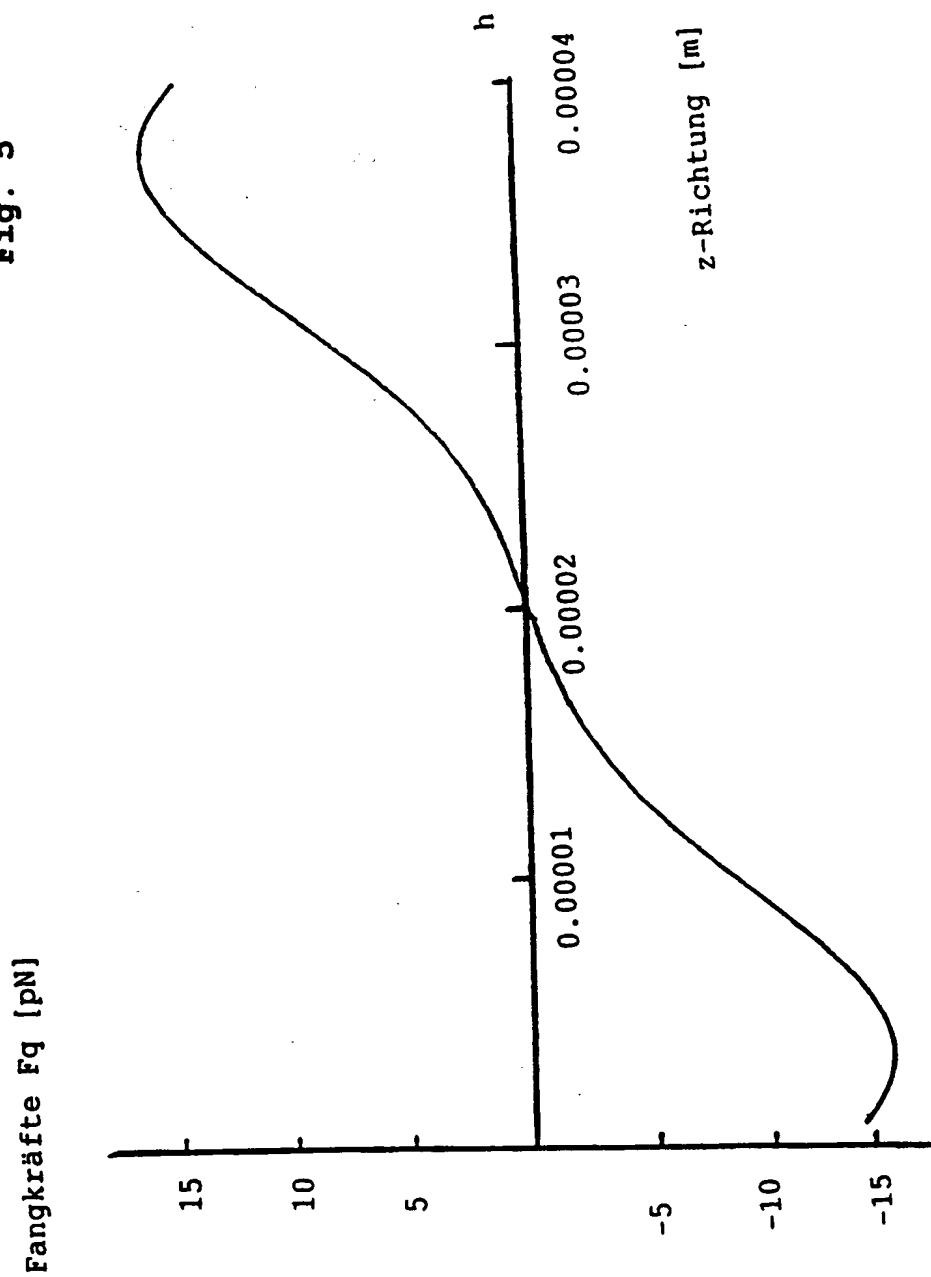
4/9

Fig. 4



THIS PAGE BLANK (USPTO)

Fig. 5



THIS PAGE BLANK (USPTO)

THIS PAGE BLANK (USPTO)

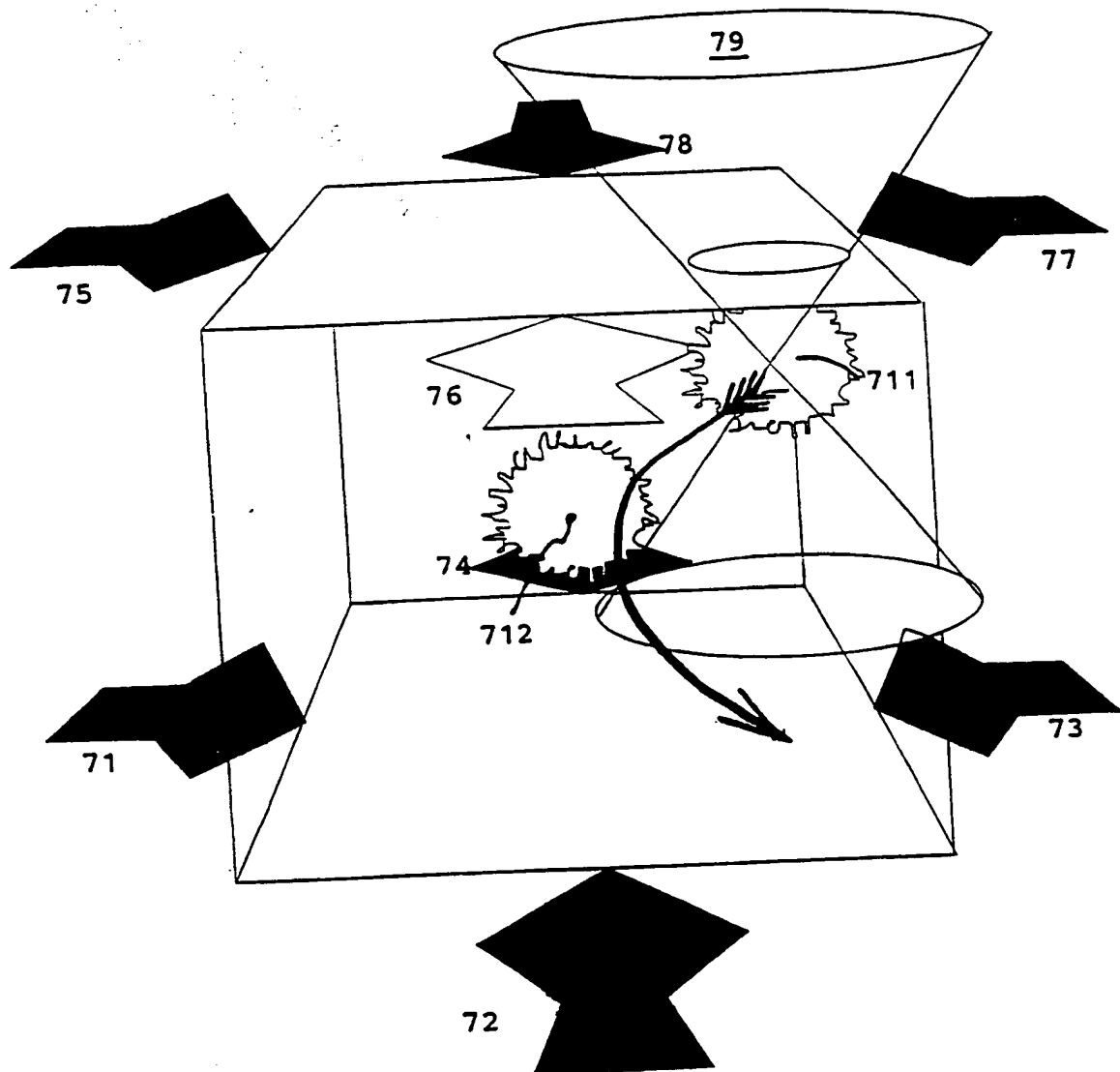


Fig. 7

THIS PAGE BLANK (USPTO)

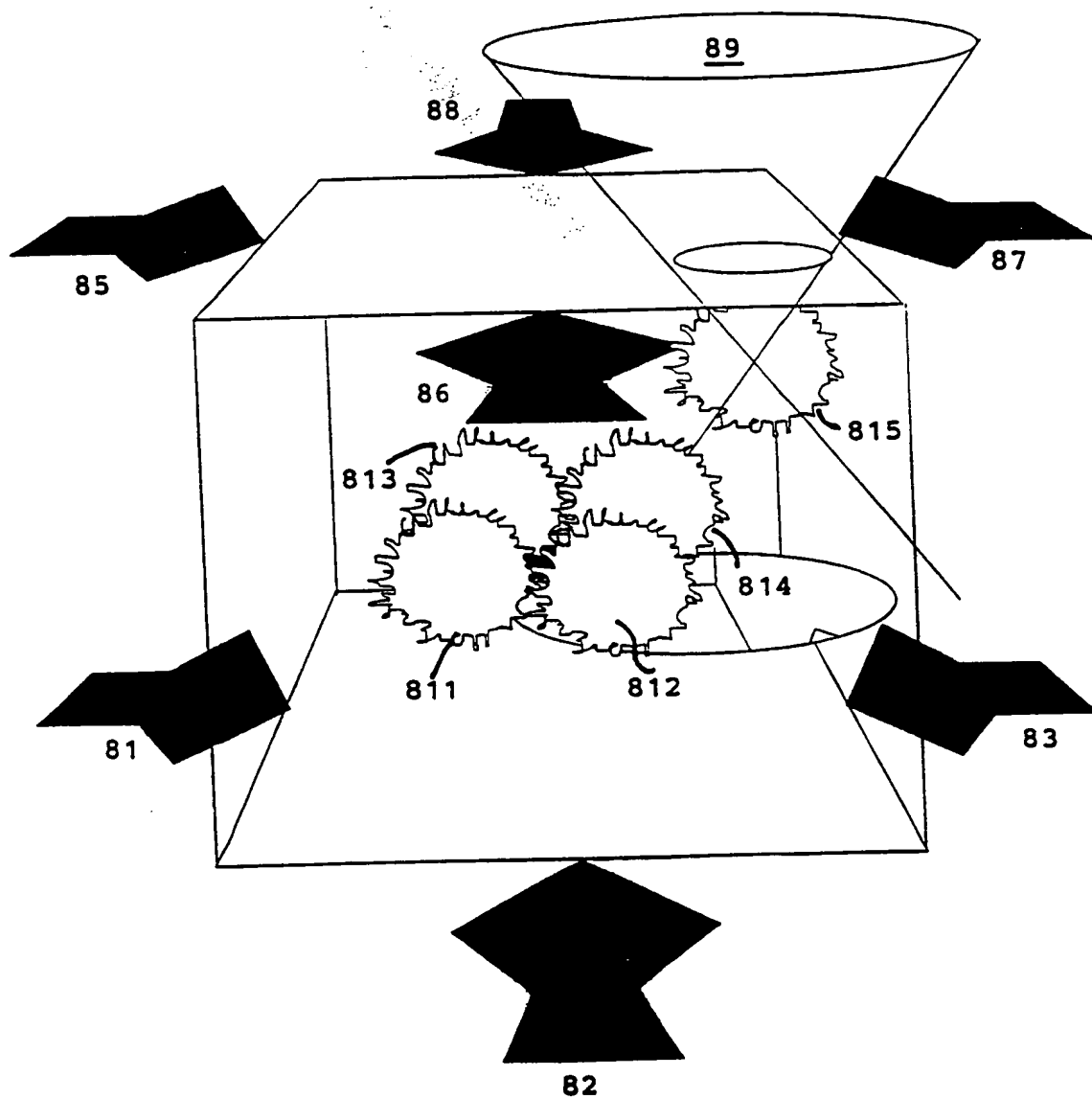


Fig. 8

THIS PAGE BLANK (USPTO)

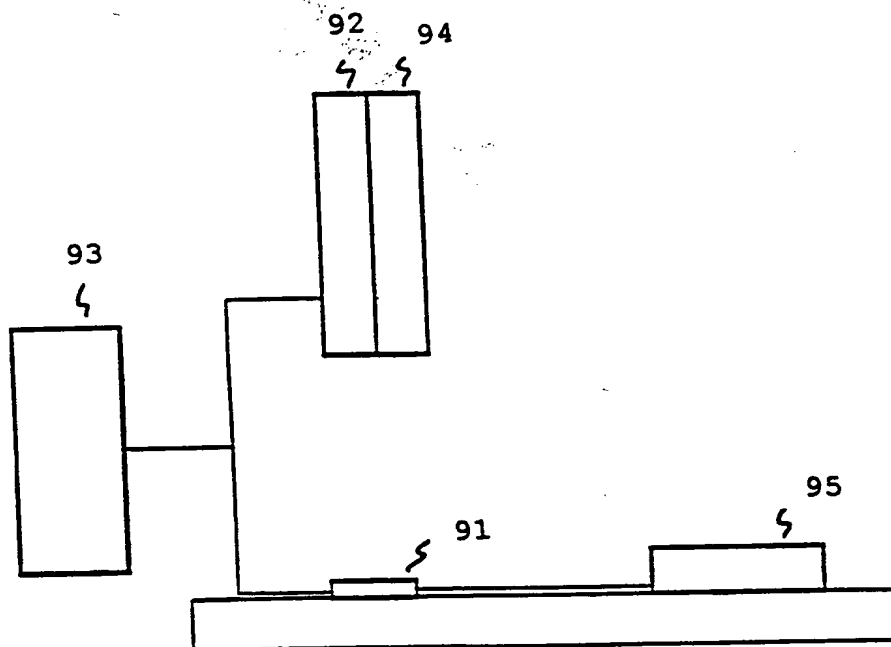


Fig. 9

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int .tional Application No

PCT/EP 98/08370

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 6 H05H3/04

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 6 H05H

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P, X	FUHR G ET AL: "Force measurements of optical tweezers in electro-optical cages" APPLIED PHYSICS A (MATERIALS SCIENCE PROCESSING), OCT. 1998, SPRINGER-VERLAG, GERMANY, vol. A67, no. 4, pages 385-390, XP002101928 ISSN 0947-8396 see the whole document	1,2,6,8, 14,15, 17-22
A	GHISLAIN L P ET AL: "MEASUREMENT OF SMALL FORCES USING AN OPTICAL TAP" REVIEW OF SCIENTIFIC INSTRUMENTS, vol. 65, no. 9, 1 September 1994, pages 2762-2768, XP000469203 see the whole document	1,13,15
	-/--	



Further documents are listed in the continuation of box C.



Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

4 May 1999

Date of mailing of the international search report

18/05/1999

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Capostagno, E

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 98/08370

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	NISHIOKA M ET AL: "MICRO MANIPULATION OF CELLS AND DNA MOLECULES" JOURNAL OF ELECTROSTATICS, vol. 35, no. 1, July 1995, pages 83-91, XP000523308 see page 85, paragraph 3.1 - paragraph 3.2 ---	8,20
A	EP 0 564 273 A (JAPAN RES DEV CORP) 6 October 1993 see column 3, line 39 - line 43 ---	24
A	SIMMONS R M ET AL: "Quantitative measurements of force and displacement using an optical trap" BIOPHYSICAL JOURNAL, APRIL 1996, BIOPHYS. SOC, USA, vol. 70, no. 4, pages 1813-1822, XP002101929 ISSN 0006-3495 -----	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 98/08370

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 0564273 A	06-10-1993	JP 5317696 A	03-12-1993
		CA 2093113 A	04-10-1993
		DE 69311613 D	24-07-1997
		DE 69311613 T	02-10-1997
<hr/>			

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Int. nationales Aktenzeichen

PCT/EP 98/08370

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 6 H05H3/04

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 6 H05H

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
P,X	FUHR G ET AL: "Force measurements of optical tweezers in electro-optical cages" APPLIED PHYSICS A (MATERIALS SCIENCE PROCESSING), OCT. 1998, SPRINGER-VERLAG, GERMANY, Bd. A67, Nr. 4, Seiten 385-390, XP002101928 ISSN 0947-8396 siehe das ganze Dokument	1,2,6,8, 14,15, 17-22
A	GHISLAIN L P ET AL: "MEASUREMENT OF SMALL FORCES USING AN OPTICAL TAP" REVIEW OF SCIENTIFIC INSTRUMENTS, Bd. 65, Nr. 9, 1. September 1994, Seiten 2762-2768, XP000469203 siehe das ganze Dokument	1,13,15
-/--		



Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen



Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"Z" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

4. Mai 1999

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

18/05/1999

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde

Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Capostagno, E

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	NISHIOKA M ET AL: "MICRO MANIPULATION OF CELLS AND DNA MOLECULES" JOURNAL OF ELECTROSTATICS, Bd. 35, Nr. 1, Juli 1995, Seiten 83-91, XP000523308 siehe Seite 85, Absatz 3.1 - Absatz 3.2 ---	8,20
A	EP 0 564 273 A (JAPAN RES DEV CORP) 6. Oktober 1993 siehe Spalte 3, Zeile 39 - Zeile 43 ---	24
A	SIMMONS R M ET AL: "Quantitative measurements of force and displacement using an optical trap" BIOPHYSICAL JOURNAL, APRIL 1996, BIOPHYS. SOC, USA, Bd. 70, Nr. 4, Seiten 1813-1822, XP002101929 ISSN 0006-3495 ----- -	

INTERNATIONALER RESEARCHBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 98/08370

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
EP 0564273 A	06-10-1993	JP 5317696 A	03-12-1993
		CA 2093113 A	04-10-1993
		DE 69311613 D	24-07-1997
		DE 69311613 T	02-10-1997
<hr/>			

THIS PAGE BLANK (USPTO)

VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

PCT

REC'D 29 SEP 1999

WIPO PCT

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

(Artikel 36 und Regel 70 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts 14581/PCT Ri	WEITERES VORGEHEN siehe Mitteilung über die Übersendung des internationalen vorläufigen Prüfungsbericht (Formblatt PCT/IPEA/416)	
Internationales Aktenzeichen PCT/EP98/08370	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 21/12/1998	Prioritätsdatum (Tag/Monat/Tag) 28/12/1997
Internationale Patentklassifikation (IPK) oder nationale Klassifikation und IPK H05H3/04		
Anmelder EVOTEC BIOSYSTEMS AG et al.		

1. Dieser internationale vorläufige Prüfungsbericht wurde von der mit der internationale vorläufigen Prüfung beauftragte Behörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 36 übermittelt.



2. Dieser BERICHT umfaßt insgesamt 5 Blätter einschließlich dieses Deckblatts.

☐ Außerdem liegen dem Bericht ANLAGEN bei; dabei handelt es sich um Blätter mit Beschreibungen, Ansprüchen und/oder Zeichnungen, die geändert wurden und diesem Bericht zugrunde liegen, und/oder Blätter mit vor dieser Behörde vorgenommenen Berichtigungen (siehe Regel 70.16 und Abschnitt 607 der Verwaltungsrichtlinien zum PCT).

Diese Anlagen umfassen insgesamt Blätter.

3. Dieser Bericht enthält Angaben zu folgenden Punkten:

- I ☒ Grundlage des Berichts
- II ☐ Priorität
- III ☐ Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit
- IV ☐ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung
- V ☒ Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderische Tätigkeit und der gewerbliche Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung
- VI ☐ Bestimmte angeführte Unterlagen
- VII ☒ Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung
- VIII ☐ Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Datum der Einreichung des Antrags 09/07/1999	Datum der Fertigstellung dieses Berichts 24. 09. 99
Name und Postanschrift der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde:  Europäisches Patentamt D-80298 München Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Bevollmächtigter Bediensteter Meul, H Tel. Nr. +49 89 2399 2494 

THIS PAGE BLANK (0870)

I. Grundlage des Berichts

1. Dieser Bericht wurde erstellt auf der Grundlage (*Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Berichts als "ursprünglich eingereicht" und sind ihm nicht beigelegt, weil sie keine Änderungen enthalten.*):

Beschreibung, Seiten:

1-24 ursprüngliche Fassung

Patentansprüche, Nr.:

1-27 ursprüngliche Fassung

Zeichnungen, Nr.:

1-9 ursprüngliche Fassung

2. Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:

- ☐ Beschreibung, Seiten:
☐ Ansprüche, Nr.:
☐ Zeichnungen, Blatt:

3. ☐ Dieser Bericht ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der Änderungen erstellt worden, da diese aus den angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2(c)):

4. Etwaige zusätzliche Bemerkungen:

V. Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

1. Feststellung

Neuheit (N)	Ja: Ansprüche	1-27
	Nein: Ansprüche	
Erfinderische Tätigkeit (ET)	Ja: Ansprüche	1-27
	Nein: Ansprüche	
Gewerbliche Anwendbarkeit (GA)	Ja: Ansprüche	1-27
	Nein: Ansprüche	

THIS PAGE BLANK (USPTO)

2. Unterlagen und Erklärungen

siehe Beiblatt

VII. Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung

Es wurde festgestellt, daß die internationale Anmeldung nach Form oder Inhalt folgende Mängel aufweist:

siehe Beiblatt

THIS PAGE BLANK (USPTO)

Punkt V.

Neuheit und erfinderische Tätigkeit

Technisches Gebiet

Die Erfindung betrifft ein Verfahren sowie eine Vorrichtung zur Bestimmung oder Ausübung optisch induzierter Kräfte auf mindestens ein Teilchen im Fokus eines optischen Käfigs. Ein solches Verfahren und eine entsprechende Vorrichtung sind aus dem Aufsatz von K. Svoboda et al. in Ann. Rev. Biophys. Biomol. Struct., Bd. 23 (1994), S. 247 (=D1) bekannt (vgl. Seite 3, Zeilen 3-10 der vorliegenden Beschreibung).

Aufgabe

Verbesserung bekannter gattungsgemäßer Verfahren und Vorrichtungen hinsichtlich Zeit- und Geräteaufwand, Genauigkeit und Reproduzierbarkeit (vgl. S. 6, Z. 1-13 der Beschreibung). Ferner besteht Bedarf an quantifizierbaren, wiederholbaren und schonenden Verfahren zur Bestimmung von Adhäsionserscheinungen und Bindungskräften an einzelnen Teilchen (vgl. S. 4, Z. 19 - S. 5, Z. 13 der Beschreibung).

Lösung

Erzwingung und Beobachtung einer Übergangsbewegung eines Teilchens innerhalb einer Mikroelektrodenanordnung vom Fokus des optischen Käfigs zum Fangbereich eines dreidimensionalen elektrischen Feldes oder umgekehrt durch Variation der Amplitude des elektrischen Feldes, der Lichtleistung und/oder des Abstands des Fangbereichs zum Fokus (vgl. Anspruch 1 für das Verfahren und Anspruch 17 für die Vorrichtung).

Bewertung

Ein erzwungener Übergang eines Teilchens zwischen Fokus und Fangbereich in einer opto-elektrischen Vorrichtung zu Mess- und/oder Manipulationszwecken wird durch den derzeit verfügbaren Stand der Technik weder offenbart noch nahegelegt:

Der Aufsatz von L.P.Ghislain et al. in Rev. Sci. Instrum. 65 (9), 1994, 2762-2768 beschreibt die Messung kleiner Kräfte, die auf ein im Laserfokus gefangenes Teilchen in einem wässrigen Medium wirken; eine Mikroelektrodenanordnung mit einem elektrischen Fangbereich ist nicht vorgesehen.

Ein opto-elektrostatischer Teilchenmanipulator zur Orientierung eines Teilchens in einer optischen Feldfalle ist aus dem Aufsatz von M. Nishioka et al. in J.Electrostatics, 35 (1995) 83-91 bekannt; das verwendete Zweielektrodensystem hat jedoch keinen elektrischen Fangbereich.

Ebenfalls keinen Fangbereich hat die in der EP 0564273 A beschriebene Elektroden-

THIS PAGE BLANK (USPTO)

anordnung einer opto-elektrischen Vorrichtung, in der ein Teilchen in einer optischen Feldfalle mit einer Elektrode in Kontakt gebracht wird und dadurch elektrochemische Reaktionen in oder mit diesem Teilchen induziert werden.

Das Verfahren nach Anspruch 1 sowie die Vorrichtung nach Anspruch 17 sind daher neu und beruhen auf einer erfinderischen Tätigkeit. Die abhängigen Ansprüche 2-16 und 18-27 beschreiben vorteilhafte Ausgestaltungen der Erfindung gemäß Anspruch 1 bzw. 17 und sind daher ebenfalls neu und erfinderisch.

Punkt VII.	Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung
------------	--

Die vorliegende Beschreibung enthält eine Inkonsistenz, weil die mit der Referenznummer 114 in Fig.1 bezeichnete Position des (verschobenen) Laserfokus (vgl. Seite 14, 3. Absatz) auf der gleichen Seite auch als Position des Feldminimums, d.h. des Fangpunktes 110b beschrieben wird (vgl. Seite 14, 2. Absatz).

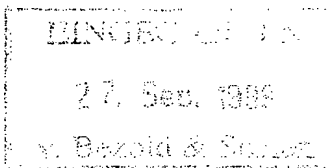
THIS PAGE BLANK (USPTO)

VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

Absender: MIT DER INTERNATIONALEN VORLÄUFIGEN PRÜFUNG BEAUFTRAGTE BEHÖRDE

An:

Hertz, O.
VON BEZOLD & SOZIEN
Akademiestrasse 7
D-80799 Muenchen
ALLEMAGNE



PCT

MITTEILUNG ÜBER DIE ÜBERSENDUNG
DES INTERNATIONALEN VORLÄUFIGEN
PRÜFUNGSBERICHTS
(Regel 71.1 PCT)

Absendedatum
(Tag/Monat/Jahr)

24. 09. 99

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts
14581/PCT Ri

WICHTIGE MITTEILUNG

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP98/08370

Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr)
21/12/1998

Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr)
28/12/1997

Anmelder

EVOTEC BIOSYSTEMS AG et al.

1. Dem Anmelder wird mitgeteilt, daß ihm die mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragte Behörde hiermit den zu der internationalen Anmeldung erstellten internationalen vorläufigen Prüfungsbericht, gegebenenfalls mit den dazugehörigen Anlagen, übermittelt.
2. Eine Kopie des Berichts wird - gegebenenfalls mit den dazugehörigen Anlagen - dem Internationalen Büro zur Weiterleitung an alle ausgewählten Ämter übermittelt.
3. Auf Wunsch eines ausgewählten Amtes wird das Internationale Büro eine Übersetzung des Berichts (jedoch nicht der Anlagen) ins Englische anfertigen und diesem Amt übermitteln.

4. ERINNERUNG

Zum Eintritt in die nationale Phase hat der Anmelder vor jedem ausgewählten Amt innerhalb von 30 Monaten ab dem Prioritätsdatum (oder in manchen Ämtern noch später) bestimmte Handlungen (Einreichung von Übersetzungen und Entrichtung nationaler Gebühren) vorzunehmen (Artikel 39 (1)) (siehe auch die durch das Internationale Büro im Formblatt PCT/IB/301 übermittelte Information).

Ist einem ausgewählten Amt eine Übersetzung der internationalen Anmeldung zu übermitteln, so muß diese Übersetzung auch Übersetzungen aller Anlagen zum internationalen vorläufigen Prüfungsbericht enthalten. Es ist Aufgabe des Anmelders, solche Übersetzungen anzufertigen und den betroffenen ausgewählten Ämtern direkt zuzuleiten.

Weitere Einzelheiten zu den maßgebenden Fristen und Erfordernissen der ausgewählten Ämter sind Band II des PCT-Leitfadens für Anmelder zu entnehmen.

Name und Postanschrift der mit der internationalen Prüfung beauftragten Behörde

 Europäisches Patentamt
D-80298 München
Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d
Fax: +49 89 2399 - 4465

Bevollmächtigter Bediensteter

Magliano, D

Tel. +49 89 2399-2245



THIS PAGE BLANK (USPTO)

VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

PCT



INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

(Artikel 36 und Regel 70 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts 14581/PCT Ri	WEITERES VORGEHEN siehe Mitteilung über die Übersendung des internationalen vorläufigen Prüfungsbericht (Formblatt PCT/IPEA/416)	
Internationales Aktenzeichen PCT/EP98/08370	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 21/12/1998	Prioritätsdatum (Tag/Monat/Tag) 28/12/1997
Internationale Patentklassifikation (IPK) oder nationale Klassifikation und IPK H05H3/04		
Anmelder EVOTEC BIOSYSTEMS AG et al.		

1. Dieser internationale vorläufige Prüfungsbericht wurde von der mit der internationale vorläufigen Prüfung beauftragte Behörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 36 übermittelt.
2. Dieser BERICHT umfaßt insgesamt 5 Blätter einschließlich dieses Deckblatts. <input type="checkbox"/> Außerdem liegen dem Bericht ANLAGEN bei; dabei handelt es sich um Blätter mit Beschreibungen, Ansprüchen und/oder Zeichnungen, die geändert wurden und diesem Bericht zugrunde liegen, und/oder Blätter mit von der Behörde vorgenommenen Berichtigungen (siehe Regel 70.16 und Abschnitt 607 der Verwaltungsrichtlinien zum PCT). Diese Anlagen umfassen insgesamt Blätter.

3. Dieser Bericht enthält Angaben zu folgenden Punkten: I <input checked="" type="checkbox"/> Grundlage des Berichts II <input type="checkbox"/> Priorität III <input type="checkbox"/> Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit IV <input type="checkbox"/> Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung V <input checked="" type="checkbox"/> Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung VI <input type="checkbox"/> Bestimmte angeführte Unterlagen VII <input checked="" type="checkbox"/> Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung VIII <input type="checkbox"/> Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung
--

Datum der Einreichung des Antrags 09/07/1999	Datum der Fertigstellung dieses Berichts 24. 09. 99
Name und Postanschrift der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde:  Europäisches Patentamt D-80298 München Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Bevollmächtigter Bediensteter Meul, H Tel. Nr. +49 89 2399 2494 

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

Internationales Aktenzeichen PCT/EP98/08370

I. Grundlage des Berichts

1. Dieser Bericht wurde erstellt auf der Grundlage (*Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Berichts als "ursprünglich eingereicht" und sind ihm nicht beigelegt, weil sie keine Änderungen enthalten.*):

Beschreibung, Seiten:

1-24 ursprüngliche Fassung

Patentansprüche, Nr.:

1-27 ursprüngliche Fassung

Zeichnungen, Nr.:

1-9 ursprüngliche Fassung

2. Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:

- ☐ Beschreibung, Seiten:
- ☐ Ansprüche, Nr.:
- ☐ Zeichnungen, Blatt:

3. ☐ Dieser Bericht ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der Änderungen erstellt worden, da diese aus den angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2(c)):

4. Etwaige zusätzliche Bemerkungen:

V. Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

1. Feststellung

Neuheit (N)	Ja: Ansprüche 1-27
	Nein: Ansprüche
Erfinderische Tätigkeit (ET)	Ja: Ansprüche 1-27
	Nein: Ansprüche
Gewerbliche Anwendbarkeit (GA)	Ja: Ansprüche 1-27
	Nein: Ansprüche

THIS PAGE BLANK (USPTO)

2. Unterlagen und Erklärungen

siehe Beiblatt

VII. Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung

Es wurde festgestellt, daß die internationale Anmeldung nach Form oder Inhalt folgende Mängel aufweist:

siehe Beiblatt

THIS PAGE BLANK (ISPTO)

Punkt V.

Neuheit und erfinderische Tätigkeit

Technisches Gebiet

Die Erfindung betrifft ein Verfahren sowie eine Vorrichtung zur Bestimmung oder Ausübung optisch induzierter Kräfte auf mindestens ein Teilchen im Fokus eines optischen Käfigs. Ein solches Verfahren und eine entsprechende Vorrichtung sind aus dem Aufsatz von K. Svoboda et al. in Ann. Rev. Biophys. Biomol. Struct., Bd. 23 (1994), S. 247 (=D1) bekannt (vgl. Seite 3, Zeilen 3-10 der vorliegenden Beschreibung).

Aufgabe

Verbesserung bekannter gattungsgemäßer Verfahren und Vorrichtungen hinsichtlich Zeit- und Geräteaufwand, Genauigkeit und Reproduzierbarkeit (vgl. S. 6, Z. 1-13 der Beschreibung). Ferner besteht Bedarf an quantifizierbaren, wiederholbaren und schonenden Verfahren zur Bestimmung von Adhäsionserscheinungen und Bindungskräften an einzelnen Teilchen (vgl. S. 4, Z. 19 - S. 5, Z. 13 der Beschreibung).

Lösung

Erzwingung und Beobachtung einer Übergangsbewegung eines Teilchens innerhalb einer Mikroelektrodenanordnung vom Fokus des optischen Käfigs zum Fangbereich eines dreidimensionalen elektrischen Feldes oder umgekehrt durch Variation der Amplitude des elektrischen Feldes, der Lichtleistung und/oder des Abstands des Fangbereichs zum Fokus (vgl. Anspruch 1 für das Verfahren und Anspruch 17 für die Vorrichtung).

Bewertung

Ein erzwungener Übergang eines Teilchens zwischen Fokus und Fangbereich in einer opto-elektrischen Vorrichtung zu Mess- und/oder Manipulationszwecken wird durch den derzeit verfügbaren Stand der Technik weder offenbart noch nahegelegt:

Der Aufsatz von L.P.Ghislain et al. in Rev. Sci. Instrum. 65 (9), 1994, 2762-2768 beschreibt die Messung kleiner Kräfte, die auf ein im Laserfokus gefangenes Teilchen in einem wässrigen Medium wirken; eine Mikroelektrodenanordnung mit einem elektrischen Fangbereich ist nicht vorgesehen.

Ein opto-elektrostatischer Teilchenmanipulator zur Orientierung eines Teilchens in einer optischen Feldfalle ist aus dem Aufsatz von M. Nishioka et al. in J.Electrostatics, 35 (1995) 83-91 bekannt; das verwendete Zweielektrodensystem hat jedoch keinen elektrischen Fangbereich.

Ebenfalls keinen Fangbereich hat die in der EP 0564273 A beschriebene Elektroden-

THIS PAGE BLANK (USPTO)

anordnung einer opto-elektrischen Vorrichtung, in der ein Teilchen in einer optischen Feldfalle mit einer Elektrode in Kontakt gebracht wird und dadurch elektrochemische Reaktionen in oder mit diesem Teilchen induziert werden.

Das Verfahren nach Anspruch 1 sowie die Vorrichtung nach Anspruch 17 sind daher neu und beruhen auf einer erfinderischen Tätigkeit. Die abhängigen Ansprüche 2-16 und 18-27 beschreiben vorteilhafte Ausgestaltungen der Erfindung gemäß Anspruch 1 bzw. 17 und sind daher ebenfalls neu und erfinderisch.

Punkt VIII.	Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung
-------------	---

Die vorliegende Beschreibung enthält eine Inkonsistenz, weil die mit der Referenznummer 114 in Fig.1 bezeichnete Position des (verschobenen) Laserfokus (vgl. Seite 14, 3. Absatz) auf der gleichen Seite auch als Position des Feldminimums, d.h. des Fangpunktes 110b beschrieben wird (vgl. Seite 14, 2. Absatz).

9082871e

9082871e

THIS PAGE BLANK (USPTO)

Translation
5650

09/582609

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference 14581/PCT Ri	FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/EP98/08370	International filing date (<i>day/month/year</i>) 21 December 1998 (21.12.98)	Priority date (<i>day/month/year</i>) 28 December 1997 (28.12.97)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC H05H 3/04		
Applicant EVOTEC BIOSYSTEMS AG		

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.	
2. This REPORT consists of a total of <u>5</u> sheets, including this cover sheet.	
<input type="checkbox"/> This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).	
These annexes consist of a total of _____ sheets.	
3. This report contains indications relating to the following items:	
I <input checked="" type="checkbox"/>	Basis of the report
II <input type="checkbox"/>	Priority
III <input type="checkbox"/>	Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
IV <input type="checkbox"/>	Lack of unity of invention
V <input checked="" type="checkbox"/>	Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
VI <input type="checkbox"/>	Certain documents cited
VII <input checked="" type="checkbox"/>	Certain defects in the international application
VIII <input type="checkbox"/>	Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 09 July 1999 (09.07.99)	Date of completion of this report 24 September 1999 (24.09.1999)
Name and mailing address of the IPEA/EP Facsimile No.	Authorized officer Telephone No.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/EP98/08370

I. Basis of the report

1. This report has been drawn on the basis of (*Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to the report since they do not contain amendments.*):

- ☐ the international application as originally filed.
- ☒ the description, pages 1-24, as originally filed,
 pages _____, filed with the demand,
 pages _____, filed with the letter of _____,
 pages _____, filed with the letter of _____.
- ☒ the claims, Nos. 1-27, as originally filed,
 Nos. _____, as amended under Article 19,
 Nos. _____, filed with the demand,
 Nos. _____, filed with the letter of _____,
 Nos. _____, filed with the letter of _____.
- ☒ the drawings, sheets/fig 1-9, as originally filed,
 sheets/fig _____, filed with the demand,
 sheets/fig _____, filed with the letter of _____,
 sheets/fig _____, filed with the letter of _____.

2. The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages _____
- ☐ the claims, Nos. _____
- ☐ the drawings, sheets/fig _____

3. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).

4. Additional observations, if necessary:

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.
PCT/EP 98/08370

V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Claims	1-27	YES
	Claims		NO
Inventive step (IS)	Claims	1-27	YES
	Claims		NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-27	YES
	Claims		NO

2. Citations and explanations

Technical Field

The invention concerns a method and device for determining or exerting optically induced forces on at least one particle situated at the focal point of an optical cage. A similar method and corresponding device are known from D1 (K. Svoboda et al. in Ann. Rev. Biophys. Biomol. Struct., Vol. 23 (1994), page 247; cf. page 3, lines 3-10 of the present description).

Technical Problem

To improve the known methods and devices of this type in terms of operating speed, apparatus requirements, accuracy and consistency (cf. description, page 6, lines 1-13). There is also a need for quantifiable, repeatable and gentle methods for determining adhesion phenomena and linkage forces in individual particles (cf. description, page 4, line 9, to page 5, line 13).

Solution

Induction and observation of a transitional movement of a particle within a microelectrode arrangement from the focal point of the optical cage to the capture zone of a three-dimensional electrical field, or vice versa, by varying the amplitude of the electrical field, the light output and/or the distance between the capture zone and the focal point (cf. Claim 1 for the method and Claim 17 for the device).

THIS PAGE BLANK (USPTO)

Assessment

The available prior art documents neither disclose nor suggest an induced movement of a particle between the focal point and the capture zone in an optoelectric device for measuring and/or manipulating.

The article by L.P. Ghislain et al. in Rev. Sci. Instrum. 65(9), 1994, 2762-2768 describes the measurement of small forces acting on a particle in an aqueous medium, the particle being caught in the focus of a laser; a microelectrode arrangement with an electrical capture zone is not provided.

An optoelectrostatic particle manipulator for positioning a particle in an optical field trap is known from the article by M. Nishioka et al. in J. Electrostatics, 35 (1995), pages 83-91; however, the twin electrode system that is used has no capture zone.

The electrode arrangement of the optoelectronic device described in EP-A-0 564 273, in which a particle is brought into contact with an electrode in an optical field trap so as to induce electrochemical reactions in or with the particle, likewise has no capture zone.

Consequently, the method defined in Claim 1 and the device described in Claim 17 are novel and involve an inventive step. Dependent Claims 2-16 and 18-27 describe advantageous embodiments of the invention as per Claims 1 and 17, respectively, and are therefore likewise novel and inventive.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

VII. Certain defects in the international application

The following defects in the form or contents of the international application have been noted:

The present description is inconsistent in that the position of the (displaced) laser focus (cf. page 14, third paragraph), which in Figure 1 is associated with reference sign 114, is described on that same page as representing the position of the field minimum, i.e. as capture point 110b (cf. page 14, second paragraph).

THIS PAGE BLANK (USPTO)

PCT

ANTRAG

Der Unterzeichnete beantragt, daß die vorliegende internationale Anmeldung nach dem Vertrag über die internationale Zusammenarbeit auf dem Gebiet des Patentwesens behandelt wird.

Vom Anmeldeamt auszufüllen

Internationales Aktenzeichen

Internationales Anmeldedatum

Name des Anmeldeamts und "PCT International Application"

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts (falls gewünscht)
(max. 12 Zeichen) 14581/PCT Ri

Feld Nr. I BEZEICHNUNG DER ERFINDUNG

Verfahren und Vorrichtung zur Vermessung, Kalibrierung und Verwendung von Laser-Pinzetten

Feld Nr. II ANMELDER

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)

EVOTEC BioSystems AG
Schnackenburgallee 114
D-22525 Hamburg (DE)

☐ Diese Person ist gleichzeitig Erfinder

Telefonnr.:

Telefaxnr.:

Fernschreibnr.:

Staatsangehörigkeit (Staat):

DE

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

DE

Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten:

☐

alle Bestimmungsstaaten

☒

alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika

☐

nur die Vereinigten Staaten von Amerika

☐

die im Zusatzfeld angegebenen Staaten

Feld Nr. III WEITERE ANMELDER UND/ODER (WEITERE) ERFINDER

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)

Fuhr, Günter
Kavallerstraße 15
D-13187 Berlin (DE)

Diese Person ist:

☐ nur Anmelder

☒ Anmelder und Erfinder

☐ nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)

Staatsangehörigkeit (Staat):

DE

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

DE

Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten:

☐

alle Bestimmungsstaaten

☐

alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika

☒

nur die Vereinigten Staaten von Amerika

☐

die im Zusatzfeld angegebenen Staaten

☒ Weitere Anmelder und/oder (weitere) Erfinder sind auf einem Fortsetzungsblatt angegeben.

Feld Nr. IV ANWALT ODER GEMEINSAMER VERTRETER; ZUSTELLANSCHRIFT

Die folgende Person wird hiermit bestellt/ist bestellt worden, um für den (die) Anmelder vor den zuständigen internationalen Behörden in folgender Eigenschaft zu handeln als:

☒

Anwalt

☐

gemeinsamer Vertreter

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben.)

Hertz, Oliver
v. Bezold & Sozien
Brienner Straße 52
D-80333 München (DE)

Telefonnr.:

089 / 524001

Telefaxnr.:

089 / 526898

Fernschreibnr.:

☐ Dieses Kästchen ist anzukreuzen, wenn kein Anwalt oder gemeinsamer Vertreter bestellt ist und statt dessen im obigen Feld eine spezielle Zustellanschrift angegeben ist.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

Fortsetzung von Feld Nr. III WEITERE ANMELDER UND/ODER (WEITERE) ERFINDER

Wird keines der folgenden Felder benutzt, so ist dieses Blatt dem Antrag nicht beizufügen.

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)

Schnelle, Thomas
Koppenstraße 65
D-10243 Berlin (DE)

Diese Person ist:

- ☐ nur Anmelder
☒ Anmelder und Erfinder
☐ nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)

Staatsangehörigkeit (Staat):

DE

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

DE

Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten:

☐

alle Bestimmungsstaaten

☐

alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika

☒

nur die Vereinigten Staaten von Amerika

☐

die im Zusatzfeld angegebenen Staaten

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)

Müller, Torsten
Hartriegelstraße 100
D-12439 Berlin (DE)

Diese Person ist:

- ☐ nur Anmelder
☒ Anmelder und Erfinder
☐ nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)

Staatsangehörigkeit (Staat):

DE

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

DE

Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten:

☐

alle Bestimmungsstaaten

☐

alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika

☒

nur die Vereinigten Staaten von Amerika

☐

die im Zusatzfeld angegebenen Staaten

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)

Hitzler, Hermine
Reilerstraße 6
D-12681 Berlin (DE)

Diese Person ist:

- ☐ nur Anmelder
☒ Anmelder und Erfinder
☐ nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)

Staatsangehörigkeit (Staat):

DE

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

DE

Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten:

☐

alle Bestimmungsstaaten

☐

alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika

☒

nur die Vereinigten Staaten von Amerika

☐

die im Zusatzfeld angegebenen Staaten

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)

Greulich, Karl-Otto
Plöck 27
D-69117 Heidelberg (DE)

Diese Person ist:

- ☐ nur Anmelder
☒ Anmelder und Erfinder
☐ nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)

Staatsangehörigkeit (Staat):

DE

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

DE

Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten:

☐

alle Bestimmungsstaaten

☐

alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika

☒

nur die Vereinigten Staaten von Amerika

☐

die im Zusatzfeld angegebenen Staaten

☒ Weitere Anmelder und/oder (weitere) Erfinder sind auf einem zusätzlichen Fortsetzungsblatt angegeben.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

Fortsetzung von Feld Nr. III WEITERE ANMELDER UND/ODER (WEITERE) ERFINDER

Wird keines der folgenden Felder benutzt, so ist dieses Blatt dem Antrag nicht beizufügen.

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)

Monajembashi, Shamci
Fritz-Frey-Straße 2
D-69121 Heidelberg (DE)

Diese Person ist:

☐ nur Anmelder

☒ Anmelder und Erfinder

☐ nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)

Staatsangehörigkeit (Staat):

IR

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

DE

Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten:

☐ alle Bestimmungsstaaten

☐ alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika

☒ nur die Vereinigten Staaten von Amerika

☐ die im Zusatzfeld angegebenen Staaten

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)

Diese Person ist:

☐ nur Anmelder

☐ Anmelder und Erfinder

☐ nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)

Staatsangehörigkeit (Staat):

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten:

☐ alle Bestimmungsstaaten

☐ alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika

☐ nur die Vereinigten Staaten von Amerika

☐ die im Zusatzfeld angegebenen Staaten

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)

Diese Person ist:

☐ nur Anmelder

☐ Anmelder und Erfinder

☐ nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)

Staatsangehörigkeit (Staat):

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten:

☐ alle Bestimmungsstaaten

☐ alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika

☐ nur die Vereinigten Staaten von Amerika

☐ die im Zusatzfeld angegebenen Staaten

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)

Diese Person ist:

☐ nur Anmelder

☐ Anmelder und Erfinder

☐ nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)

Staatsangehörigkeit (Staat):

Sitz oder Wohnsitz (Staat):

Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten:

☐ alle Bestimmungsstaaten

☐ alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika

☐ nur die Vereinigten Staaten von Amerika

☐ die im Zusatzfeld angegebenen Staaten

☐ Weitere Anmelder und/oder (weitere) Erfinder sind auf einem zusätzlichen Fortsetzungsblatt angegeben.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

Feld Nr. V BESTIMMUNG VON STAATEN

Die folgenden Bestimmungen nach Regel 4.9 Absatz a werden hiermit vorgenommen (bitte die entsprechenden Kästchen ankreuzen; wenigstens ein Kästchen muß angekreuzt werden):

Regionales Patent

- ☐ **AP ARIPO-Patent:** GH Ghana, GM Gambia, KE Kenia, LS Lesotho, MW Malawi, SD Sudan, SZ Swasiland, UG Uganda, ZW Simbabwe und jeder weitere Staat, der Vertragsstaat des Harare-Protokolls und des PCT ist
- ☐ **EA Eurasisches Patent:** AM Armenien, AZ Aserbaidshon, BY Belarus, KG Kirgisistan, KZ Kasachstan, MD Republik Moldau, RU Russische Föderation, TJ Tadschikistan, TM Turkmenistan und jeder weitere Staat, der Vertragsstaat des Eurasischen Patentübereinkommens und des PCT ist
- ☒ **EP Europäisches Patent:** AT Österreich, BE Belgien, CH und LI Schweiz und Liechtenstein, DE Deutschland, DK Dänemark, ES Spanien, FI Finnland, FR Frankreich, GB Vereinigtes Königreich, GR Griechenland, IE Irland, IT Italien, LU Luxemburg, MC Monaco, NL Niederlande, PT Portugal, SE Schweden und jeder weitere Staat, der Vertragsstaat des Europäischen Patentübereinkommens und des PCT ist
- ☐ **OA OAPI-Patent:** BF Burkina Faso, BJ Benin, CF Zentralafrikanische Republik, CG Kongo, CI Côte d'Ivoire, CM Kamerun, GA Gabun, GN Guinea, ML Mali, MR Mauretanien, NE Niger, SN Senegal, TD Tschad, TG Togo und jeder weitere Staat, der Vertragsstaat der OAPI und des PCT ist (falls eine andere Schutzrechtsart oder ein sonstiges Verfahren gewünscht wird, bitte auf der gepunkteten Linie angeben)

Nationales Patent (falls eine andere Schutzrechtsart oder ein sonstiges Verfahren gewünscht wird, bitte auf der gepunkteten Linie angeben):

- | | |
|---|--|
| <input type="checkbox"/> AL Albanien | <input type="checkbox"/> LT Litauen |
| <input type="checkbox"/> AM Armenien | <input type="checkbox"/> LU Luxemburg |
| <input type="checkbox"/> AT Österreich | <input type="checkbox"/> LV Lettland |
| <input type="checkbox"/> AU Australien | <input type="checkbox"/> MD Republik Moldau |
| <input type="checkbox"/> AZ Aserbaidshon | <input type="checkbox"/> MG Madagaskar |
| <input type="checkbox"/> BA Bosnien-Herzegowina | <input type="checkbox"/> MK Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien |
| <input type="checkbox"/> BB Barbados | <input type="checkbox"/> MN Mongolei |
| <input type="checkbox"/> BG Bulgarien | <input type="checkbox"/> MW Malawi |
| <input type="checkbox"/> BR Brasilien | <input type="checkbox"/> MX Mexiko |
| <input type="checkbox"/> BY Belarus | <input type="checkbox"/> NO Norwegen |
| <input type="checkbox"/> CA Kanada | <input type="checkbox"/> NZ Neuseeland |
| <input type="checkbox"/> CH und LI Schweiz und Liechtenstein | <input type="checkbox"/> PL Polen |
| <input type="checkbox"/> CN China | <input type="checkbox"/> PT Portugal |
| <input type="checkbox"/> CU Kuba | <input type="checkbox"/> RO Rumänien |
| <input type="checkbox"/> CZ Tschechische Republik | <input type="checkbox"/> RU Russische Föderation |
| <input type="checkbox"/> DE Deutschland | <input type="checkbox"/> SD Sudan |
| <input type="checkbox"/> DK Dänemark | <input type="checkbox"/> SE Schweden |
| <input type="checkbox"/> EE Estland | <input type="checkbox"/> SG Singapur |
| <input type="checkbox"/> ES Spanien | <input type="checkbox"/> SI Slowenien |
| <input type="checkbox"/> FI Finnland | <input type="checkbox"/> SK Slowakei |
| <input type="checkbox"/> GB Vereinigtes Königreich | <input type="checkbox"/> SL Sierra Leone |
| <input type="checkbox"/> GE Georgien | <input type="checkbox"/> TJ Tadschikistan |
| <input type="checkbox"/> GH Ghana | <input type="checkbox"/> TM Turkmenistan |
| <input type="checkbox"/> GM Gambia | <input type="checkbox"/> TR Türkei |
| <input type="checkbox"/> GW Guinea-Bissau | <input type="checkbox"/> TT Trinidad und Tobago |
| <input type="checkbox"/> HU Ungarn | <input type="checkbox"/> UA Ukraine |
| <input type="checkbox"/> ID Indonesien | <input type="checkbox"/> UG Uganda |
| <input type="checkbox"/> IL Israel | <input checked="" type="checkbox"/> US Vereinigte Staaten von Amerika |
| <input checked="" type="checkbox"/> JP Japan | <input type="checkbox"/> UZ Usbekistan |
| <input type="checkbox"/> KE Kenia | <input type="checkbox"/> VN Vietnam |
| <input type="checkbox"/> KG Kirgisistan | <input type="checkbox"/> YU Jugoslawien |
| <input type="checkbox"/> KP Demokratische Volksrepublik Korea | <input type="checkbox"/> ZW Simbabwe |
| <input type="checkbox"/> KR Republik Korea | |
| <input type="checkbox"/> KZ Kasachstan | |
| <input type="checkbox"/> LC Saint Lucia | |
| <input type="checkbox"/> LK Sri Lanka | |
| <input type="checkbox"/> LR Liberia | |
| <input type="checkbox"/> LS Lesotho | |

Kästchen für die Bestimmung von Staaten (für die Zwecke eines nationalen Patents), die dem PCT nach der Veröffentlichung dieses Formblatts beigetreten sind:

Zusätzlich zu den oben genannten Bestimmungen nimmt der Anmelder nach Regel 4.9 Absatz b auch alle anderen nach dem PCT zulässigen Bestimmungen vor mit Ausnahme der Bestimmung von

Der Anmelder erklärt, daß diese zusätzlichen Bestimmungen unter dem Vorbehalt einer Bestätigung stehen und jede zusätzliche Bestimmung, die vor Ablauf von 15 Monaten ab dem Prioritätsdatum nicht bestätigt wurde, nach Ablauf dieser Frist als vom Anmelder zurückgenommen gilt. (Die Bestätigung einer Bestimmung erfolgt durch die Einreichung einer Mitteilung, in der diese Bestimmung angegeben wird, und die Zahlung der Bestimmungs- und der Bestätigungsgebühr. Die Bestätigung muß beim Anmeldeamt innerhalb der Frist von 15 Monaten eingehen.)

THIS PAGE BLANK (USPTO)

Feld Nr. VI PRIORITÄTSANSPRUCH		Weitere Prioritätsansprüche sind im Zusatzfeld angegeben. <input type="checkbox"/>													
Die Priorität der folgenden früheren Anmeldung(en) wird hiermit beansprucht:															
Staat <small>(Anmelde- oder Bestimmungsstaat der Anmeldung)</small>	Anmeldedatum <small>(Tag/Monat/Jahr)</small>	Aktenzeichen	Anmeldeamt <small>(nur bei regionaler oder internationaler Anmeldung)</small>												
(1) DE	197 57 785.7	28.12.1997													
(2)															
(3)															
<p><small>Dieses Kästchen ankreuzen, wenn die beglaubigte Kopie der früheren Anmeldung von dem Amt ausgestellt werden soll, das für die Zwecke dieser internationalen Anmeldung Anmeldeamt ist (eine Gebühr kann verlangt werden):</small></p> <p><input type="checkbox"/> Das Anmeldeamt wird hiermit ersucht, eine beglaubigte Abschrift der oben in Zeile(n) _____ bezeichneten früheren Anmeldung(en) zu erstellen und dem Internationalen Büro zu übermitteln.</p>															
Feld Nr. VII INTERNATIONALE RECHERCHENBEHÖRDE															
<p>Wahl der Internationalen Recherchenbehörde (ISA) <small>(Sind zwei oder mehr Internationale Recherchenbehörden für die internationale Recherche zuständig, ist der Name der Behörde anzugeben, die die internationale Recherche durchführen soll; Zweibuchstaben-Code genügt):</small> ISA / _____</p> <p>Frühere Recherche <small>Ausfüllen, wenn eine Recherche (internationale Recherche, Recherche internationaler Art oder sonstige Recherche) bereits bei der internationalen Recherchenbehörde beantragt oder von ihr durchgeführt worden ist und diese Behörde nun ersucht wird, die internationale Recherche soweit wie möglich auf die Ergebnisse einer solchen früheren Recherche zu stützen. Die Recherche oder der Recherchenantrag ist durch Angabe der betreffenden Anmeldung (bzw. deren Übersetzung) oder des Recherchenantrags zu bezeichnen.</small></p> <p>Staat (oder regionales Amt): _____ Datum (Tag/Monat/Jahr) : _____ Aktenzeichen: _____</p>															
Feld Nr. VIII KONTROLLISTE															
<p>Diese internationale Anmeldung umfaßt:</p> <table style="width: 100%;"> <tr> <td style="width: 50%;">1. Antrag : 5 Blätter</td> <td style="width: 50%;">1. <input type="checkbox"/> Unterzeichnete gesonderte Vollmacht</td> </tr> <tr> <td>2. Beschreibung : 24 Blätter</td> <td>5. <input type="checkbox"/> Blatt für die Gebührenberechnung</td> </tr> <tr> <td>3. Ansprüche : 5 Blätter</td> <td>6. <input type="checkbox"/> Gesonderte Angaben zu hinterlegten Mikroorganismen</td> </tr> <tr> <td>4. Zusammenfassung : 1 Blätter</td> <td>7. <input type="checkbox"/> Sequenzprotokolle für Nucleotide und/oder Aminosäuren (Diskette)</td> </tr> <tr> <td>5. Zeichnungen : 9 Blätter</td> <td>8. <input type="checkbox"/> Sonstige (einzeln auflisten):</td> </tr> <tr> <td>Insgesamt : 44 Blätter</td> <td>4. <input type="checkbox"/> Prioritätsbeleg(e) (durch die Zeilennummer von Feld Nr. VI kennzeichnen):</td> </tr> </table>		1. Antrag : 5 Blätter	1. <input type="checkbox"/> Unterzeichnete gesonderte Vollmacht	2. Beschreibung : 24 Blätter	5. <input type="checkbox"/> Blatt für die Gebührenberechnung	3. Ansprüche : 5 Blätter	6. <input type="checkbox"/> Gesonderte Angaben zu hinterlegten Mikroorganismen	4. Zusammenfassung : 1 Blätter	7. <input type="checkbox"/> Sequenzprotokolle für Nucleotide und/oder Aminosäuren (Diskette)	5. Zeichnungen : 9 Blätter	8. <input type="checkbox"/> Sonstige (einzeln auflisten):	Insgesamt : 44 Blätter	4. <input type="checkbox"/> Prioritätsbeleg(e) (durch die Zeilennummer von Feld Nr. VI kennzeichnen):	<p>Dieser internationalen Anmeldung liegen die nachstehend angekreuzten Unterlagen bei:</p>	
1. Antrag : 5 Blätter	1. <input type="checkbox"/> Unterzeichnete gesonderte Vollmacht														
2. Beschreibung : 24 Blätter	5. <input type="checkbox"/> Blatt für die Gebührenberechnung														
3. Ansprüche : 5 Blätter	6. <input type="checkbox"/> Gesonderte Angaben zu hinterlegten Mikroorganismen														
4. Zusammenfassung : 1 Blätter	7. <input type="checkbox"/> Sequenzprotokolle für Nucleotide und/oder Aminosäuren (Diskette)														
5. Zeichnungen : 9 Blätter	8. <input type="checkbox"/> Sonstige (einzeln auflisten):														
Insgesamt : 44 Blätter	4. <input type="checkbox"/> Prioritätsbeleg(e) (durch die Zeilennummer von Feld Nr. VI kennzeichnen):														
Abbildung Nr. 1 der Zeichnungen (falls vorhanden) soll mit der Zusammenfassung veröffentlicht werden.															
Feld Nr. IX UNTERSCHRIFT DES ANMELDERS ODER DES ANWALTS															
<p><small>Der Name jeder unterzeichnenden Person ist neben der Unterschrift zu wiederholen, und es ist anzugeben, sofern sich dies nicht eindeutig aus dem Antrag ergibt, in welcher Eigenschaft die Person unterzeichnet.</small></p> <p>Hertz, Oliver Europäischer Patentanwalt</p>															

Vom Anmeldeamt auszufüllen	
1. Datum des tatsächlichen Eingangs dieser internationalen Anmeldung: _____	2. Zeichnungen <input type="checkbox"/> eingegangen: <input type="checkbox"/> nicht eingegangen:
3. Geändertes Eingangsdatum aufgrund nachträglich, jedoch fristgerecht eingegangener Unterlagen oder Zeichnungen zur Vervollständigung dieser internationalen Anmeldung: _____	
4. Datum des fristgerechten Eingangs der angeforderten Richtigstellungen nach Artikel 11(2) PCT: _____	
5. Vom Anmelder benannte Internationale Recherchenbehörde: ISA / _____	6. <input type="checkbox"/> Übermittlung des Recherchenexemplars bis zur Zahlung der Recherchegebühr aufgeschoben

Vom Internationalen Büro auszufüllen
Datum des Eingangs des Aktenexemplars beim Internationalen Büro: _____

THIS PAGE BLANK (USPTO)

PCT

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

(Artikel 18 sowie Regeln 43 und 44 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts 14581/PCT Ri	WEITERES VORGEHEN siehe Mitteilung über die Übermittlung des internationalen Recherchenberichts (Formblatt PCT/ISA/220) sowie, soweit zutreffend, nachstehender Punkt 5	
Internationales Aktenzeichen PCT/EP 98/ 08370	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 21/12/1998	(Frühestes) Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) 28/12/1997
Anmelder EVOTEC BIOSYSTEMS AG et al.		

Dieser internationale Recherchenbericht wurde von der Internationalen Recherchenbehörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 18 übermittelt. Eine Kopie wird dem Internationalen Büro übermittelt.

Dieser internationale Recherchenbericht umfaßt insgesamt 3 Blätter.

☒ Darüber hinaus liegt ihm jeweils eine Kopie der in diesem Bericht genannten Unterlagen zum Stand der Technik bei.

1. Grundlage des Berichts

a. Hinsichtlich der **Sprache** ist die internationale Recherche auf der Grundlage der internationalen Anmeldung in der Sprache durchgeführt worden, in der sie eingereicht wurde, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

☐ Die internationale Recherche ist auf der Grundlage einer bei der Behörde eingereichten Übersetzung der internationalen Anmeldung (Regel 23.1 b)) durchgeführt worden.

b. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale Recherche auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das

☐ in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.

☐ zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.

☐ bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.

☐ bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.

☐ Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.

☐ Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfaßten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

2. ☐ Bestimmte Ansprüche haben sich als nicht recherchierbar erwiesen (siehe Feld I).

3. ☐ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung (siehe Feld II).

4. Hinsichtlich der Bezeichnung der Erfindung

☒ wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.

☐ wurde der Wortlaut von der Behörde wie folgt festgesetzt:

5. Hinsichtlich der Zusammenfassung

☒ wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.

☐ wurde der Wortlaut nach Regel 38.2b) in der in Feld III angegebenen Fassung von der Behörde festgesetzt. Der Anmelder kann der Behörde innerhalb eines Monats nach dem Datum der Absendung dieses internationalen Recherchenberichts eine Stellungnahme vorlegen.

6. Folgende Abbildung der **Zeichnungen** ist mit der Zusammenfassung zu veröffentlichen: Abb. Nr. 1

☒ wie vom Anmelder vorgeschlagen

☐ weil der Anmelder selbst keine Abbildung vorgeschlagen hat.

☐ weil diese Abbildung die Erfindung besser kennzeichnet.

☐ keine der Abb.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
 IPK 6 H05H3/04

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

 Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
 IPK 6 H05H

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie°	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
P,X	FUHR G ET AL: "Force measurements of optical tweezers in electro-optical cages" APPLIED PHYSICS A (MATERIALS SCIENCE PROCESSING), OCT. 1998, SPRINGER-VERLAG, GERMANY, Bd. A67, Nr. 4, Seiten 385-390, XP002101928 ISSN 0947-8396 siehe das ganze Dokument	1,2,6,8, 14,15, 17-22
A	GHISLAIN L P ET AL: "MEASUREMENT OF SMALL FORCES USING AN OPTICAL TAP" REVIEW OF SCIENTIFIC INSTRUMENTS, Bd. 65, Nr. 9, 1. September 1994, Seiten 2762-2768, XP000469203 siehe das ganze Dokument	1,13,15
	-/--	



Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen



Siehe Anhang Patentfamilie

° Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

4. Mai 1999

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

18/05/1999

 Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde
 Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
 NL - 2280 HV Rijswijk
 Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
 Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Capostagno, E

THIS PAGE BLANK (USPTO)

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie°	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	NISHIOKA M ET AL: "MICRO MANIPULATION OF CELLS AND DNA MOLECULES" JOURNAL OF ELECTROSTATICS, Bd. 35, Nr. 1, Juli 1995, Seiten 83-91, XP000523308 siehe Seite 85, Absatz 3.1 - Absatz 3.2 ----	8,20
A	EP 0 564 273 A (JAPAN RES DEV CORP) 6. Oktober 1993 siehe Spalte 3, Zeile 39 - Zeile 43 ----	24
A	SIMMONS R M ET AL: "Quantitative measurements of force and displacement using an optical trap" BIOPHYSICAL JOURNAL, APRIL 1996, BIOPHYS. SOC, USA, Bd. 70, Nr. 4, Seiten 1813-1822, XP002101929 ISSN 0006-3495 -----	

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

ation on patent family members

International Application No

PCT/EP 98/08370

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 0564273 A	06-10-1993	JP 5317696 A	03-12-1993
		CA 2093113 A	04-10-1993
		DE 69311613 D	24-07-1997
		DE 69311613 T	02-10-1997

THIS PAGE BLANK (USPTO)